

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS (PPGCEM)

BRUNO RAFAEL MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE
PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE
EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA

2019

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS (PPGCEM)

BRUNO RAFAEL MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE
PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE
EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais”.

Orientador(a): Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

Co-orientador(a): Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

LONDRINA

2019

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

M149d Machado, Bruno Rafael

Desenvolvimento de filmes de pectina/quitosana/glicerol para produção de embalagens biodegradáveis para alimentos / Bruno Rafael Machado. - Apucarana : [s.n.], 2019.

87 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

Coorientador: Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.
Londrina, 2019.

Bibliografia: f. 72-87.

1. Embalagens. 2. Filmes finos. 3. Polissacarídeos. 4. Pectina. 5. Quitosana.
I. Martins, Alessandro Francisco, orient. II. Bonafé, Elton Guntendorfer, coorient.
III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Engenharia de Materiais. V. Título.

CDD: 620.11



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Londrina
Programa De Pós-Graduação Em Ciência E
Engenharia de Materiais



TERMO DE APROVAÇÃO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE
PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE
EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**

por

BRUNO RAFAEL MACHADO

Dissertação apresentada no dia 10 de dezembro de 2019 ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

(UTFPR – Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Engenharia De Materiais – PPGCEM)
Orientador

Prof. Dr. Bruno Henrique Vilsinski

(UEM – Departamento de Química)

Prof. Dr. Johny Paulo Monteiro

(UTFPR – Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Engenharia De Materiais – PPGCEM)

Obs: A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Mestrado em Ensino de Matemática.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre do meu lado, por me conceder força e perseverança em momentos de exaustão, me guiando sempre pelo melhor caminho, transformando os obstáculos em aprendizagem, ajudando este teu filho a concluir mais uma etapa em sua vida.

A minha mãe, Maria de Lourdes, obrigado por tudo. Pelo amor, pelo incentivo, pela coragem e me ajudar a ser determinado. Mãe, você é meu espelho, me ajudou em muitos desafios durante esta jornada e sempre torceu pela minha vitória e me levantou nas derrotas. Aos demais familiares, pelo carinho, pelas alegrias e pelas palavras de confiança, para que eu sempre seguisse adiante em busca dos meus sonhos.

Agradecer aos professores Johny Monteiro e Sandro Venter, pelos materiais fornecidos para o desenvolvimento deste trabalho e também pelo companheirismo.

Ao meu co-orientador, Elton Guntendorfer Bonafé, um agradecimento especial por suas orientações, dicas, companheirismo, acreditando sempre no meu potencial para que este mestrado fosse concluído.

Ao meu orientador, professor Alessandro Francisco Martins, “Pai Alessandro”, meu eterno muito obrigado por suas contribuições, orientações, brincadeiras, dicas, cobranças e por sempre acreditar em mim. O termo “pai” não é utilizado somente por ser meu orientador, mas por me apoiar no momento mais difícil em minha vida. Você sempre acreditou em mim, mais do que eu mesmo, sempre me viu como um bom e exemplar aluno, dedicado em tudo aquilo que faz.

Aos membros da banca, agradeço por aceitarem o convite de participação.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR Câmpus Londrina/Apucarana, agradecer pela oportunidade de conclusão de mestrado, para obtenção do título de mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Aos meus amigos, que conviveram diariamente no laboratório (LaMMAC) e estiveram comigo ao longo desta jornada, obrigado por existirem em minha vida, agradeço pelos momentos divertidos, pelas piadas, pelos conselhos e pela ajuda diante das dificuldades e pelo auxílio durante algumas análises. Também agradeço

em especial a professora Patrícia Salomão por todo auxílio nas análises mecânicas dos filmes na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Por fim, dedico este trabalho e esta conquista, ao meu pai Antoninho (*in memoriam*). Pai, você é minha maior saudade. Agradeço por todos estes anos juntos. Foram anos valiosos, de amor, companheirismo, ensinamentos e dedicação para criar seus filhos. Se estou concluindo esta etapa é por você e para lhe dar muito orgulho como eu lhe prometi. Seu xodó te ama para se

MACHADO, Bruno Rafael. **DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**. 90f. Dissertação de mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Apucarana/Londrina, 2019.

RESUMO

A reciclagem de embalagens plásticas não tem acontecido de forma eficaz, principalmente pela presença de contaminantes sintéticos (tintas e corantes) nas embalagens e descarte incorreto. Portanto, esse estudo aborda o preparo de hidrogéis (filmes) a base de polissacarídeos biodegradáveis (pectina e quitosana) contendo diferentes conteúdos de glicerol (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40% em massa). Os filmes foram preparados por meio de blendas de pectina/quitosana (67/33 m/m) obtidas em HCl 0,10 mol L⁻¹ na presença de glicerol, seguido da evaporação do solvente. Filmes lavados em meio aquoso e filmes não lavados foram obtidos e caracterizados por meio de medidas de propriedades mecânicas, microscopia eletrônica de varredura (SEM), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS), análise termogravimétrica, e medidas de ângulo de contato. O filme não lavado contendo 40% em massa de glicerol apresentou o melhor resultado de elasticidade até a ruptura ($\varepsilon = 19\%$). Por outro lado, os filmes lavados e preparados, com teores de glicerol acima de 15%, apresentaram elevada resistência à tração ($\sigma = > 46$ MPa). Após lavagem, filmes contendo teores de glicerol acima de 15% se reorganizam, promovendo aumento da resistência à tração. Medidas de ângulo de contato e análise termogravimétricas confirmaram a reorganização das cadeias poliméricas nos filmes lavados. Os espectros de XPS confirmaram a presença dos polissacarídeos, como também do glicerol na superfície dos filmes. Os filmes apresentaram citocompatibilidade sobre células tronco do tecido adiposo de humanos (células ADSCs) e atividade antimicrobiana e antiadesiva contra *Escherichia coli*. Os filmes promoveram uma baixa taxa de permeabilidade ao vapor de água e gás oxigênio e, ainda, atuaram como barreira à luz UV. O filme com 40% de glicerol pode atuar como embalagem de tomates.

Palavras-chave: Embalagem, Filmes, Polissacarídeos, Pectina, Quitosana, Glicerol

MACHADO, Bruno Rafael. **DEVELOPMENT OF PECTIN/CHITOSAN/ GLYCEROL FILMS FOR PRODUCTION OF BIODEGRADABLE FOOD PACKAGES**. 90f. Master dissertation - Postgraduate Program in Materials Science and Engineering, Federal University of Technology, Apucarana/Londrina Campus, 2019.

ABSTRACT

Recycling of plastic packaging has not been effective, mainly due to the presence of synthetic contaminants (paints and dyes) in the packs and incorrect disposal. Therefore, this study addresses the preparation of hydrogels (films) based on biodegradable polysaccharides (pectin and chitosan) containing different contents of glycerol (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40% in mass). The films were prepared from pectin/chitosan blends (67/33 wt/at) obtained in 0.10 mol L⁻¹ HCl at the presence of glycerol, followed by the solvent evaporation. Washed and unwashed films were obtained and characterized by mechanical measurements, scanning electron microscopy (SEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), thermogravimetric analysis, and contact angle measurements. An unwashed film containing 40% glycerol content showed the best result of elasticity until rupture ($\varepsilon = 19\%$). On the other hand, washed films with glycerol contents above 15%, presented high tensile strength ($\sigma = > 46$ MPa). After washing, films containing glycerol above 15% reorganize, increasing the tensile strength. Contact angle measurements and thermogravimetric analysis confirmed the reorganization of the polymeric chains in the washed films. XPS spectra confirmed the presence of polysaccharides, as well as the glycerol on the film surfaces. The films presented cytocompatibility onto human adipose stem cells (ADSCs cells) and antimicrobial and anti-adhesive activities against *Escherichia coli*. The films promoted a low permeability rate to water vapor and oxygen gas and also acted as a barrier to UV light. The film containing 40% glycerol content can act as packaging for tomatoes.

Keywords: Packaging, Films, Polysaccharides, Pectin, Chitosan, Glycerol

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Utilização de plásticos em diversos setores (2015)..... | 10 |
| Figura 2. Projeção para 2025 mediante ao lixo plástico mal gerenciado..... | 12 |
| Figura 3. Estrutura química do glicerol | 20 |
| Figura 4. Estrutura química da quitosana (unidades desacetiladas). | 23 |
| Figura 5. Estrutura da pectina. | 24 |
| Figura 6. Medidas de resistência à tração (Figs. 6A e 6B) e resultados de $\epsilon\%$ (Figs. 6C e 6D) dos filmes não lavados e lavados na presença de GLI (5 a 40%). Diferenças significativas estão indicadas (* indica $p \leq 0,05$). | 36 |
| Figura 7. Curvas de tensão versus deformação dos filmes PT/QT obtidos com diferentes conteúdos de GLI. | 37 |
| Figura 8. Espectros XPS (survey) das superfícies dos filmes não lavados (FA) e lavados (FD) contendo diferentes conteúdos de GLI. | 42 |
| Figura 9. Espectros XPS de alta resolução de amostras não lavadas e lavadas: envelope C1s. | 45 |
| Figura 10. Imagens digitais das superfícies dos filmes após o contato com uma gota de água em diferentes tempos ($t = 0$ e 10 min)..... | 49 |
| Figura 11. Curvas TGA/DTG: QT (pó) e filme de PT puro não-lavado e sem GLI, GLI puro, filmes não lavados e lavados com 15 e 40% de GLI. | 51 |
| Figura 12. Imagens SEM dos filmes não lavados e lavados de PT/QT contendo diferentes concentrações de GLI (imagens obtidas na ampliação $1000\times$ e escala 10 μm)..... | 55 |
| Figura 13. Resultados de citotoxicidade (%) sobre células tronco do tecido adiposo (ADSCs) após 24 h de incubação determinados pelo teste LDH. | 57 |
| Figura 14. Imagens digitais das placas de cultura de E. coli contendo discos (6,0 mm) dos filmes FA40 e FD15, após 6 e 24 h de incubação a 37 °C (pH 7,4). | 59 |
| Figura 15. Imagens SEM do filme não lavado (FA40) e lavado (FD15) incubados com E. coli após 24 h. | 61 |
| Figura 16. Espectros UV-Vis dos filmes com 15 e 40% de GLI..... | 65 |
| Figura 17. Imagens digitais de tomates-cerejas embalados com os filmes FA40 e PVC depois de 0, 9 e 18 dias. Amostra 1 = filme FA40 acondicionado fora da | |

geladeira (temperatura ambiente); Amostra 2 = filme PVC acondicionado fora da
geladeira (temperatura ambiente) 69

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Condições experimentais utilizadas no preparo dos filmes..... | 28 |
| Tabela 2. Medidas de ângulo de contato realizadas pela adição de uma gota de água na superfície dos filmes FA e FD ($t = 10$ min). | 47 |
| Tabela 3: Resultados das taxas de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e gás oxigênio (TPO ₂) determinadas sobre os filmes FA40 e FD15. | 63 |
| Tabela 4: Valores de transparência dos filmes FA15, FA40, FD15 e FD40..... | 66 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADSC** = células tronco do tecido adiposo humano
- ANVISA** = Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BC** = celulose bacteriana
- BHI** = infusão de cérebro e coração
- CMC** = carboximetilcelulose
- DMEM** = *Dulbecco Modified Eagle Medium*
- DPPG** = dipalmitoilfosfatidilglicerol
- EMC** = matriz extracelular
- FA** = filmes antes do processo de lavagem
- FD** = filmes após o processo de lavagem
- GG** = goma guar
- GLI** = glicerol
- IC** = *iota*-carragena
- INT** = sal de tetrazólio
- LDH** = lactato desidrogenase
- MHA** = Agar Müller-Hinton
- PECs** = complexo polieletrólítico
- PT** = pectina
- PVC** = policloreto de vinila
- PVP** = polivinilpirrolidona
- QT** = quitosana
- SEM** = microscopia eletrônica de varredura
- TGA** = análise termogravimétrica
- TPVA** = taxa de permeabilidade ao vapor de água
- TPO₂** = taxa de permeabilidade ao oxigênio
- XPS** = Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.1 | EMBALAGENS PLÁSTICAS DE ALIMENTOS E IMPACTOS AMBIENTAIS..... | 10 |
| 1.2 | HIDROGÉIS..... | 15 |
| 1.3 | POLISSACARÍDEOS E EMBALAGENS DE ALIMENTOS | 16 |
| 1.4 | GLICEROL COMO AGENTE PLASTIFICANTE | 19 |
| 1.5 | QUITOSANA E PECTINA: PRODUÇÃO DE FILMES | 22 |
| 1.6 | 1.6 MATERIAIS FÍSICOS DE PECTINA/QUITOSANA E APLICAÇÕES..... | 25 |
| 2 | OBJETIVOS | 27 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 27 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 27 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 28 |
| 3.1 | MATERIAIS..... | 28 |
| 3.2 | PREPARO DOS FILMES | 28 |
| 3.3 | CARACTERIZAÇÃO | 29 |
| 3.3.1 | Medidas das Propriedades Mecânicas | 29 |
| 3.3.2 | Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raio-X | 29 |
| 3.3.3 | Medidas de Ângulo de Contato | 30 |
| 3.3.4 | Análise Termogravimétrica | 30 |
| 3.3.5 | Microscopia Eletrônica de Varredura..... | 31 |
| 3.4 | ENSAIO DE CITOTOXICIDADE..... | 31 |
| 3.5 | ENSAIO ANTIMICROBIANO..... | 32 |
| 3.5.1 | Microrganismo Utilizado e Condições de Crescimento | 32 |
| 3.5.2 | Ensaio Antimicrobiano via Método Disco-Difusão..... | 33 |
| 3.5.3 | Ensaio de Adesão e Proliferação de <i>E. coli</i> | 33 |
| 3.6 | PROPRIEDADES DE BARREIRA..... | 34 |
| 3.6.1 | Permeabilidade | 34 |
| 3.6.2 | Propriedade de Barreira a Luz..... | 34 |
| 3.7 | APLICAÇÃO COMO EMBALAGEM PARA ALIMENTOS | 35 |
| 3.8 | ESTATÍSTICA..... | 35 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 4.1 | PROPRIEDADES MECÂNICAS..... | 36 |
| 4.2 | ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIOS-X..... | 39 |
| 4.3 | MEDIDAS DE ÂNGULO DE CONTATO..... | 46 |
| 4.4 | ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA | 50 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.5 | MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA | 53 |
| 4.6 | CITOTOXICIDADE DOS FILMES | 56 |
| 4.7 | ENSAIO ANTIMICROBIANO VIA MÉTODO DISCO-DIFUSÃO | 58 |
| 4.8 | ENSAIO DE ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE BACTÉRIAS | 60 |
| 4.9 | TAXAS DE PERMEABILIDADE A VAPOR DE ÁGUA E OXIGÊNIO | 63 |
| 4.10 | PROPRIEDADE DE BARREIRA À LUZ | 64 |
| 4.11 | EMBALAGEM DE ALIMENTOS | 67 |
| 5 | CONCLUSÃO | 71 |
| | REFERÊNCIAS | 72 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS DE ALIMENTOS E IMPACTOS AMBIENTAIS

A produção de embalagens plásticas tem crescido abruptamente no decorrer dos anos, sendo estimado o comércio de aproximadamente 146 milhões de toneladas no ano de 2015 (Fig. 1) (RITCHIE, ROSER, 2018).

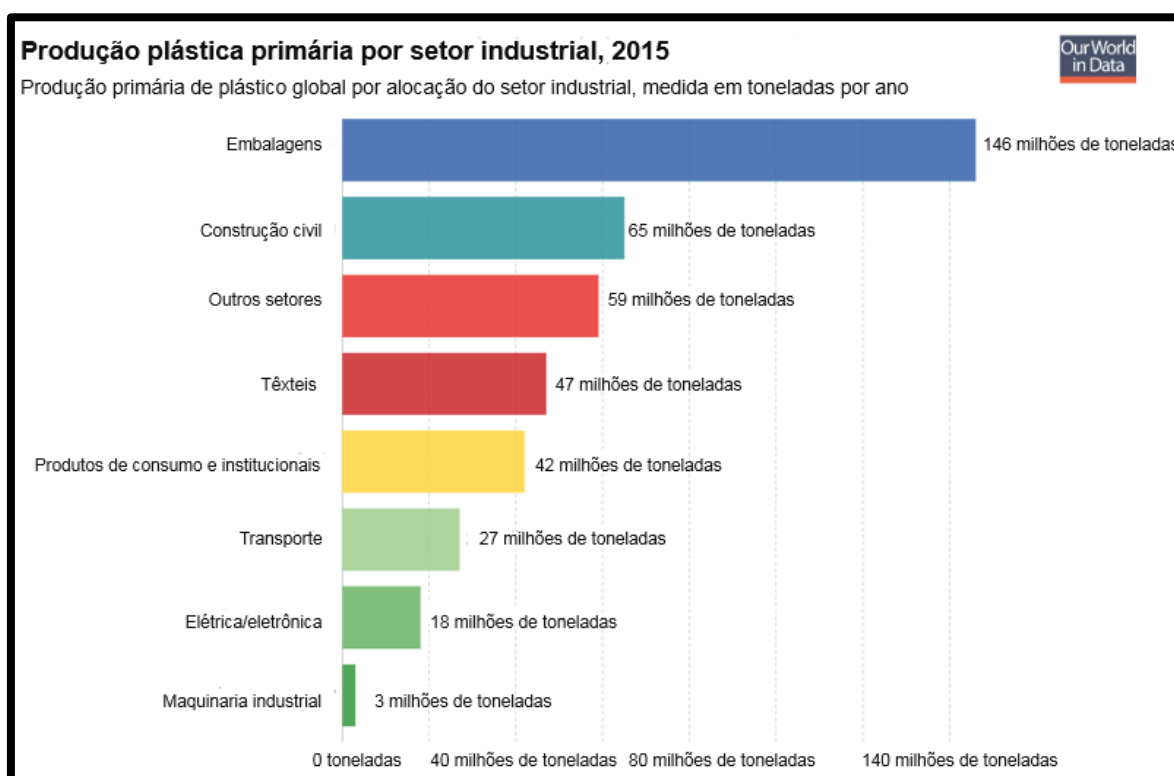


Figura 1. Utilização de plásticos em diversos setores (2015).

Fonte: RITCHIE, ROSER, (2018) (com adaptações).

A elevada utilização e produção de embalagens plásticas tem sido impulsionada pela crescente demanda de alimentos de alta qualidade e necessidade de aumento do tempo de prateleira (LICCIARDELLO, 2017). A principal função das embalagens é proteger e conservar o alimento, assegurando a manutenção das propriedades organolépticas e higiene mediante condições externas e internas. Sendo assim, as embalagens devem assegurar ou minimizar a contaminação por microrganismos, a entrada de gases, vapor de água, poeira, minimizar impactos mecânicos, e outros (VITALE, et al., 2018; YOUSSEF, EL-SAYED, 2018). A resolução 91 de 11 de maio de 2001 da Agência Nacional de

21 Vigilância Sanitária (ANVISA), dispõe que as embalagens em contato direto com os
22 alimentos devem ser fabricados de modo que não haja migração de componentes
23 indesejáveis, tóxicos ou contaminantes para os alimentos. Caso haja migração, as
24 proporções não podem superar os limites máximos estabelecidos de migração total
25 ou específica. A migração não pode representar um risco para saúde humana ou
26 ocasionar mudanças na composição ou nas características sensoriais dos
27 alimentos (ANVISA Nº 91/2001). Estas funções possibilitam o aumento do prazo
28 de validade, minimizando a perda e desperdício de produtos alimentícios (HAN, et
29 al., 2018).

30 Todas as funções de uma embalagem são designadas para as embalagens
31 primárias, ou seja, aquelas que estão em contato direto com o produto alimentício,
32 como bandejas, garrafas, entre outras. Essas embalagens são comumente
33 encontradas nas residências de consumidores, pois são úteis em atividades
34 domésticas (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016). O emprego de plásticos para
35 embalagens alimentícias está relacionado ao seu baixo custo e suas propriedades
36 mecânicas desejáveis, destacando-se a flexibilidade, baixo peso, bom desempenho
37 mecânico e transparência (LICCIARDELLO, 2017). O ajuste dessas características
38 permite a obtenção de embalagens que mantêm a permanência do frescor dos
39 alimentos por um tempo maior, evitando a presença de contaminantes (FERREIRA,
40 ALVES, COELHO, 2016).

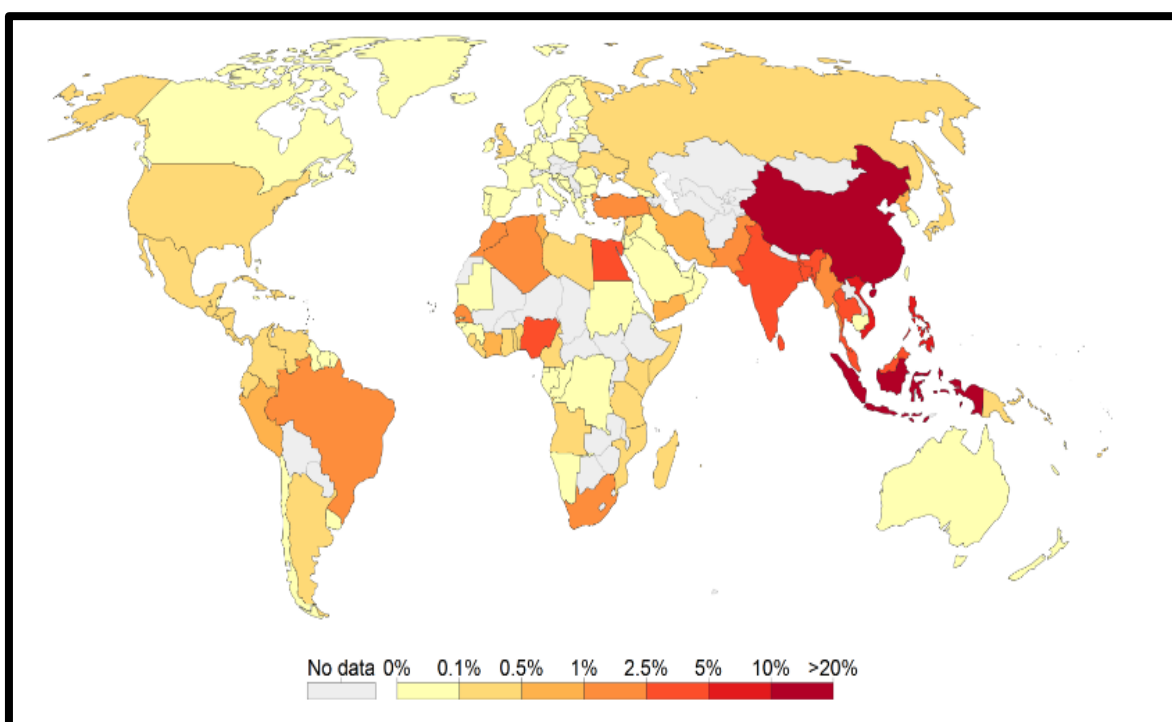
41 A elevada durabilidade das embalagens plásticas devido à resistência ao
42 ataque de bactérias (ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018) e a falta de
43 biodegradabilidade têm proporcionado o acúmulo de materiais plásticos no meio
44 ambiente. Esse efeito tem se tornado um grande problema ambiental (DILKES-
45 HOFFMAN, et al., 2018). Os plásticos não biodegradáveis estão poluindo os
46 ambientes aquáticos e solos, interferindo na manutenção da vida de animais. O
47 descarte inadequado desses geram problemas ambientais devido ao acúmulo em
48 ecossistemas. Isso acontece em decorrência da sua resistência à degradação
49 microbiana (ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018).

50 A dificuldade de reciclagem ou da reutilização de embalagens plásticas para
51 alimentos estão vinculados à presença de vários tipos de contaminantes. A exemplo
52 de corantes, tintas de impressão, adesivos e, em diversos casos, contaminação
53 orgânica, seja pela presença de alimentos embalados em estado de decomposição

54 ou não (BRIASSOULIS, GIANNOULIS, 2018). Além disso, tratamentos
55 inadequados aplicados a estes resíduos, como descarte em aterros e incineração,
56 colocam em risco a saúde humana e o meio ambiente (YOUSSEF, EL-SAYED,
57 2018).

58 A Fig. 2 apresenta uma projeção do aumento do conteúdo de plástico no
59 planeta para o ano de 2025, mediante o gerenciamento incorreto de materiais
60 plásticos, os quais são descartados no meio ambiente, aterros sanitários ou
61 diretamente nos oceanos (RITCHIE, ROSER, 2018).

62



63

64

65 **Figura 2.** Projeção do aumento de consumo de plásticos para 2025 mediante ao lixo plástico mal
66 gerenciado

66

Fonte: RITCHIE, ROSER, (2018).

67

68

69 Novas informações aos consumidores possibilitam a conscientização no
70 que diz respeito à reciclagem dos materiais plásticos. Além disso, há crescente
71 busca pelo desenvolvimento de produtos ecologicamente corretos, que sejam
72 seguros e possuam baixa toxicidade para saúde humana e meio ambiente
(LICCIARDELLO, 2017).

73

74

75

A crescente busca pelo desenvolvimento de embalagens de baixo custo,
por meio do uso de materiais renováveis, tais como polissacarídeos e proteínas
(BATISTA, et al., 2019). A utilização de polissacarídeos como a celulose é um

76 exemplo. Jancy e colaboradores (2020) desenvolveram filmes reforçados com
77 nanopartículas de celulose a partir da parte não comestível da jaca (*Artocarpus*
78 *heterophyllus*) para produção de embalagens. Para formação dos filmes, foram
79 utilizados álcool polivinílico, nanopartículas de celulose e óleo essencial de
80 sementes de erva doce. Foram preparados 30 tipos de filmes e feito a otimização
81 estatística para escolha da melhor amostra. Em todas as amostras foram avaliadas
82 a resistência à tração, o alongamento até a ruptura, a atividade antioxidante e
83 atividade antimicrobiana contra *E. coli*. A análise estatística demonstrou que o filme
84 contendo 7% de álcool polivinílico, 5% de nanopartículas de celulose e 0,6 mL/100
85 mL de óleo essencial de semente de erva doce apresentou os melhores resultados,
86 com resistência à tração de $11,49 \pm 0,18$ MPa, alongamento até a ruptura de $118,21$
87 $\pm 0,91\%$, atividade antioxidante de $42,81 \pm 0,71\%$ e atividade antimicrobiana de $4,78$
88 $\pm 0,03\%$. Os resultados apresentados foram superiores quando comparados aos
89 filmes de álcool polivinílico. As diversas características apresentadas pelos filmes
90 permitiram aos autores concluir que os filmes desenvolvidos neste trabalho são
91 propícios para utilização em embalagens para alimentos (JANCY, SHRUTHY,
92 PREETHA, 2020).

93 Os avanços na área de ciências dos materiais e o desejo de manufaturar
94 alimentos isentos de aditivos e que possuam maior durabilidade tem chamado
95 atenção de pesquisadores. Estes buscam o desenvolvimento de embalagens
96 plásticas eficientes e biodegradáveis. Busca-se a produção de embalagens
97 sustentáveis, que possam ter atividades antimicrobiana e anti-adesiva para evitar a
98 proliferação e adesão de bactérias, respectivamente. Ademais, procura-se reduzir
99 os impactos ambientais gerados pelos plásticos não biodegradáveis (HAN, et al.,
100 2018; GARCIA, SHIN, KIM, 2018).

101 Para considerar a embalagem de um alimento como sustentável, todas as
102 etapas do processo de sua produção precisam: i) fazer uso de matéria-prima à base
103 de materiais biodegradáveis (recursos renováveis), tornando os recursos fósseis
104 dispensáveis no processo de produção de plásticos; ii) a produção deve empregar
105 processos que requerem baixa demanda de energia e, ainda não promova
106 poluição; e iii) materiais que possam ser reciclados (LICCIARDELLO, 2017).

107 Nesta vertente, hidrogéis têm sido utilizados para o desenvolvimento de
108 embalagens de alimentos, visando o controle de umidade e aumento de

109 durabilidade (BATISTA, et al., 2019). Em especial, hidrogéis à base de polímeros
110 naturais (polissacarídeos e proteínas) têm sido considerados uma alternativa
111 promissora para a produção de embalagens para alimentos, pois suas
112 características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, possível atividade
113 antimicrobiana e baixa citotoxicidade podem contribuir para o aumento da
114 durabilidade dos alimentos nas prateleiras. Além disso, a integração de hidrogéis
115 naturais em sistemas de embalagens constitui uma tecnologia alternativa e
116 promissora em termos de evolução e preservação do meio ambiente, propiciando
117 melhorias na qualidade, segurança e estabilidade dos alimentos e diminuindo os
118 impactos causados ao meio ambiente (BATISTA, et al., 2019).

119 As informações acima podem ser confirmadas pelo trabalho desenvolvido
120 por Bandyopadhyay e colaboradores (2019) com o desenvolvimento de filmes
121 (hidrogéis) à base de celulose bacteriana (BC) e goma guar (GG) modificados com
122 polivinilpirrolidona/carboximetilcelulose (PVP/CMC) para embalagem de amoras.
123 Foram desenvolvidos quatro tipos de filmes, sendo: filme PVP/CMC (50/50), filme
124 PVP/CMC/BC (50/25/25), filme PVP/CMC/GG (50/25/25) e o filme de
125 PVP/CMC/BC/GG (50/25/17/13). Todos os filmes foram preparados em 150 mL de
126 água, incorporados com 1,5 mL de glicerol, 3 g de ágar e 1,5 g de polietileno glicol.
127 Os resultados demonstraram que o filme PVP/CMC/BC/GG apresentou melhores
128 propriedades de barreira contra vapor de água, gás oxigênio e solubilidade em
129 água. As propriedades mecânicas deste filme indicaram resistência à tração de $25,9$
130 $\pm 1,1$ MPa, alongamento até a ruptura de $21 \pm 3\%$ e adesividade de 0,01 N. Além
131 disso, o filme PVP/CMC/BC/GG, apresentou superfície mais hidrofóbica, com
132 ângulo de contato de $76,16^\circ \pm 1,1$ do lado superior e $46,4^\circ \pm 0,8$ do lado inferior. Na
133 utilização dos filmes para embalagem de amoras, verificou-se que os filmes
134 mantiveram a cor e a textura dos frutos por 15 dias. Os autores analisaram as
135 modificações estruturais nos filmes antes e após embalar os amoras e verificaram
136 que somente o filme de PVP/CM/GG apresentaram modificações em sua estrutura.
137 O conjunto destes resultados indicaram que o filme PVP/CMC/BC/GG apresentou
138 as melhores propriedades para utilização em embalagens para alimentos
139 (BANDYOPADHYAY, et al., 2019).

140

141 1.2HIDROGÉIS

142

143 Os hidrogéis consistem em redes tridimensionais de cadeias poliméricas,
144 caracterizados pela grande capacidade de absorção de água ou fluidos biológicos
145 sem que haja perda de sua estrutura 3D (BATISTA, et al., 2019; MAHINROOSTA,
146 et al., 2018). A capacidade de absorção de água destes materiais deve-se aos
147 grupos funcionais hidrofílicos ligados as cadeias dos polímeros precursores, tais
148 como os grupos $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-CONH_2$, $-OSO_3H$ dentre outros (AHMED,
149 2015; ULLAH, et al., 2015). Quando intumescidos, a estrutura tridimensional é
150 baseada em duas fases, tais como a fase líquida (composta por água) e a fase
151 sólida (constituída de polímeros ou misturas poliméricas) reticulada (BATISTA, et
152 al., 2019).

153 A formação dos hidrogéis decorre por meio do estabelecimento de ligações
154 químicas ou interações físicas. Em ligações químicas, as cadeias do hidrogel são
155 formadas por redes poliméricas organizadas e reticuladas, estando interligadas
156 umas às outras por meio de ligações covalentes, formando, geralmente estruturas
157 permanentes, estáveis e insolúveis em água. Os hidrogéis químicos são melhores
158 mecanicamente, mas também são frágeis e geralmente irreversíveis (BATISTA, et
159 al., 2019; DA CRUZ, et al., 2020). A formação de hidrogéis por ligações físicas
160 acontece devido ao estabelecimento de interações eletrostáticas, íon-dipolo e
161 intermoleculares do tipo van der Waals, ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo que
162 ocorrem entre os segmentos de cadeias poliméricas. No geral, hidrogéis físicos
163 podem ser denominados de complexos polieletrólíticos (PECs). Esses materiais são
164 formados pelo estabelecimento de interações eletrostáticas entre grupos de cargas
165 opostas em solução, como também por interações intramoleculares e
166 intermoleculares entre polímeros com grupos ionizáveis de cargas opostas em
167 solução aquosa. Hidrogéis físicos podem ter estruturas permanentes; entretanto,
168 essa característica é dependente das condições de pH, força iônica, temperatura,
169 dos precursores empregados na formação do hidrogel, bem como da metodologia
170 de preparo dos materiais. No entanto, hidrogéis físicos geralmente apresentam
171 desvantagens como a deformação em partes pseudo plásticas, baixa força
172 mecânica e estabilidade (OLIVEIRA, et al., 2020; OLIVEIRA, et al., 2019).

173 Os hidrogéis podem apresentar características interessantes tais como,
174 flexibilidade, permeabilidade, elasticidade, capacidade para intumescer, alta
175 condutividade iônica, entre outras (ULLAH, et al., 2015). Estas características
176 permitem a sua aplicação em inúmeras áreas como, por exemplo, em sistemas de
177 liberação de fármacos (KIM, et al., 2019), na área ambiental (atuam como agentes
178 adsorventes) (RUFATO, et al., 2019), área biomédica (promovem regeneração e
179 reparação de tecidos) (CÂMARA, et al., 2019), indústria de alimentos (podem ser
180 utilizados como filmes para confecção de embalagens (RAMBABU, et al., 2019), e
181 outras.

182 Nesta vertente, novas formas de produção de embalagens estão sendo
183 desenvolvidas a partir de materiais biodegradáveis, por meio de recursos
184 renováveis que não sejam tóxicos ao meio ambiente. Dentre estes materiais, os
185 polissacarídeos têm tido ênfase como matéria-prima, em virtude de sua abundância
186 (WU, et al., 2018) e capacidade para formar filmes biodegradáveis (FERREIRA,
187 ALVES, COELHO, 2016).

188
189

1.3 POLISSACARÍDEOS E EMBALAGENS DE ALIMENTOS

190

191 Os polissacarídeos são polímeros de carboidratos (HARVEY, FERRIER,
192 2012), sendo encontrados em abundância no planeta Terra (NELSON, COX, 2016,
193 ORSUWAN, SOTHORNVIT, 2018). Por estarem presentes em inúmeros seres
194 vivos (SONG, SHANG, RATNER, 2012), podem ser extraídos de organismos, como
195 animais (quitina), plantas (amido, galactomananas, celulose e pectina), algas
196 (carragena, alginato), microrganismos (pullulan, goma gelana, goma xantana e
197 fucopol) (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016) dentre outros. Também
198 conhecido como glicanos, os polissacarídeos geralmente possuem elevada massa
199 molar (> 20.000 Da), diferindo-se em relação ao comprimento de suas cadeias,
200 unidades repetitivas, no tipo de ligação que unem estas unidades, grau de
201 ramificação e tipo de cadeia lateral (NELSON, COX, 2016).

202 Em termos de cargas os polissacarídeos são classificados em catiônicos,
203 aniônicos e neutros. Essa classificação depende do tipo de grupo químico lateral
204 presente na estrutura do polissacarídeo. Grupos químicos, tais como $-NH_2$, $-OH$, $-$
205 $COOH$ e $-CONH_2$ são suscetíveis a modificações químicas, visando alteração de

206 propriedades químicas e físicas das estruturas de polissacarídeos (ROCHA,
207 SOUZA, PRETINCE, 2018; NESIC, SESLIJA, 2017). Polissacarídeos também
208 recebem destaque nas indústrias de cosméticos, médico-farmacêutica (como
209 agentes para curativos e carreadores de fármacos) e têxtil (produção de
210 embalagens) (NESIC, SESLIJA, 2017).

211 Modificações químicas de polissacarídeos são importantes. Por exemplo, a
212 desacetilação parcial da quitina na presença de hidróxido de sódio leva à formação
213 da quitosana. A quitosana possui algumas vantagens interessantes em relação à
214 quitina, tais como, solubilidade em soluções aquosas de ácidos diluídos,
215 propriedades antimicrobianas, capacidade de atuar como ligante quelante sobre
216 íons metálicos e outras (FOLLMANN, et al., 2015; MARTINS, et al., 2014).

217 A existência de uma ampla gama de polissacarídeos possibilita inúmeras
218 aplicações tecnológicas, em diversas áreas, especialmente no preparo de produtos
219 alimentícios. Na indústria de alimentos, os polissacarídeos podem ser utilizados
220 como espessantes (pectina, carragena, amido (NESIC, SESLIJA, 2017), celulose
221 (LU, et al., 2019), goma gelana (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016), pullulan
222 (SINGH, KAUR, KENNEDY, 2019) e alginato (QIN, et al., 2018)); estabilizantes
223 (pectina, alginato) (NESIC, SESLIJA, 2017), carragena (ROCHA, SOUZA,
224 PRETINCE, 2018), goma gelana (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016), pullulan
225 (SINGH, KAUR, KENNEDY, 2019) e celulose (LU, et al., 2019)) e emulsificantes
226 (carragena (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016), celulose (LU, et al., 2019),
227 pectina (NGOUÉMAZONG, 2015) e goma arábica (OZTURK, McCLEMENTS,
228 2016)).

229 Embalagens plásticas confeccionadas à base de polissacarídeos podem
230 contribuir com propriedades importantes para o uso como embalagens alimentícias,
231 como propriedades antimicrobianas, antifúngicas e impermeabilidade contra gases
232 O₂ e CO₂ e biodegradabilidade (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016; ROCHA,
233 SOUZA, PRETINCE, 2018; WU et al., 2018). Entretanto, geralmente, a utilização de
234 polímeros naturais na produção de filmes para embalagens alimentícias,
235 apresentam desvantagens. Por exemplo, promovem características mecânicas
236 ruins, pois formam materiais frágeis e quebradiços, bem como também apresentam
237 elevada permeabilidade à transferência de vapor de água. Além de transpor essas

238 deficiências, é necessário que os filmes alimentícios contenham transparência
239 óptica e estabilidade térmica (CAZÓN, et al., 2017).

240 Para a preparação de filmes biodegradáveis, inicialmente o polissacarídeo
241 deve ser dissolvido ou disperso em um solvente apropriado (água, álcool, mistura
242 de solventes, dentre outros). Normalmente, o aquecimento da solução resultante,
243 bem como o ajuste do valor de pH do sistema podem facilitar o preparo de soluções
244 poliméricas contendo plastificantes e agentes antimicrobianos. A solução formadora
245 de filme é moldada e seca em temperatura e umidade relativa previamente
246 estabelecidas para obtenção de filmes via método casting (CAZÓN, et al., 2017).

247 Filmes biodegradáveis para embalagens alimentícias contendo agentes
248 antimicrobianos podem proporcionar aos alimentos maior prazo de validade e
249 durabilidade. Destacamos o aumento da viabilidade promovida sobre alimentos
250 perecíveis. Além disso, os agentes antimicrobianos influenciam nas propriedades
251 dos filmes, tais como, propriedades mecânicas (resistência à tração e elasticidade)
252 e na permeabilidade a gases e vapor de água (KHANEGHAH, HASHEMI, LIMBO,
253 2018).

254 Os agentes plastificantes em filmes biodegradáveis geralmente promovem
255 diminuição das forças intermoleculares existentes entre as cadeias poliméricas,
256 aumentando a flexibilidade do sistema. O aumento da flexibilidade, diminui a
257 fragilidade do filme, possibilitando melhor manuseio (VIEIRA, et al., 2011). Além de
258 modificar o módulo de elasticidade e outras propriedades mecânicas, os
259 plastificantes alteram a permeabilidade à vapores de água e gases (HAN, 2014).
260 Dentre os plastificantes utilizados, destacam-se os polióis, como o glicerol
261 (CIANNAMEA, et al., 2018; PRIYARDASHI, KUMAR, NEGI, 2018; CÁZON,
262 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018, CÁZON, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019), sorbitol
263 (FARHAN, NANI, 2017; KUMAR, GHOSHAL, GOYAL, 2019), xilitol (LI, et al., 2018),
264 e outros.

265 A contribuição dos agentes plastificantes em filmes biodegradáveis pode
266 ser confirmada no trabalho desenvolvido por Priyadarshi e colaboradores (2018),
267 em que utilizaram ácido cítrico (reticulante a 2,0% m/v) e glicerol (1,0% m/v) em
268 soluções de quitosana (2,0% m/v) preparadas em solução de ácido acético (1,0%
269 v/v). O propósito foi desenvolver embalagens alimentícias para prolongar a vida útil
270 de pimentas verdes. A presença de glicerol no filme reticulado promoveu uma maior

271 transparência, redução de 5,5% na transmissão de vapor de água e redução de
272 29% na permeabilidade ao vapor de água. A incorporação do glicerol elevou a
273 flexibilidade do filme em 12 vezes, mas promoveu redução de 82% na resistência à
274 tração do material. O filme reticulado com glicerol também apresentou maior
275 estabilidade térmica e propriedade antioxidante, quando comparado ao filme de
276 quitosana puro. O filme de quitosana reticulado e incorporado com glicerol
277 promoveu aumento do tempo de vida útil de pimentas verdes em até 7 dias
278 (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018).

279 Outros materiais podem ser incorporados aos filmes para proporcionar
280 melhores propriedades mecânicas e uma barreira contra transmissão de água (WU,
281 et al., 2018). Destacam-se extratos naturais a base de cranberry, mirtilo, beterraba,
282 romã, orégano, pitaya, uvas (LOZANO-NAVARRO, et al., 2017) e manga (ADILAH,
283 JAMILAH, HANANI, 2018), bem como nanomateriais (nanopartículas metálicas,
284 nanofibras, nanotubos de carbono, e outros) (KUSWANDI, MORADI, 2019).
285 Lozano-Navarro e colaboradores (2017) empregaram diversos extratos naturais
286 (cranberry, mirtilo, beterraba, romã, orégano, pitaya e uvas) em filmes de amido e
287 quitosana, com o objetivo de promover propriedades antimicrobianas e antifúngicas
288 ao material final. Os extratos promoveram melhorias na atividade antimicrobiana
289 contra bactérias *Coliformes* (Gram-negativa) e fungos (*Penicillium notatum*,
290 *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*) em comparação aos filmes puros (sem
291 adição de extratos) (LOZANO-NAVARRO, et al., 2017).

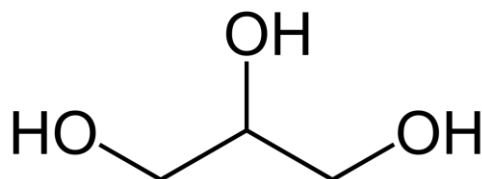
292
293

1.4 GLICEROL COMO AGENTE PLASTIFICANTE

294

295 O glicerol (GLI) é um composto orgânico (propano-1,2,3-triol) de fórmula
296 molecular $C_3H_8O_3$ pertencente ao grupo dos polióis (Fig. 3). Estruturalmente,
297 consiste em uma cadeia composta por três átomos de carbono com um grupo
298 hidroxila ligado à cada átomo de carbono (Fig. 3) (DICK, et al., 2015; TAN, AZIZ,
299 AROUA, 2013). O GLI é um líquido incolor, inodoro, higroscópico, viscoso e
300 promove baixa citotoxicidade para seres humanos e meio ambiente. Apresenta
301 ponto de fusão (18 °C), ponto de ebulição (290 °C) e ponto de fulgor (177 °C). Na
302 temperatura de 25 °C e 1 atm, o GLI (peso molecular de 92,09 g mol⁻¹) apresenta
303 densidade de 1,261 g cm⁻³ e viscosidade de 1,5 Pa.s (TAN, AZIZ, AROUA, 2013).

304



305

306

Figura 3. Estrutura química do glicerol

307

Fonte: Autoria própria.

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

Por ser citocompatível e biodegradável, o GLI proporciona benefícios importantes, sendo utilizado em mais de duas mil aplicações diferentes. Destacam-se aplicações na área farmacêutica (produção de medicamentos e plastificantes para cápsulas de medicamentos), área cosmética (produtos para pele e cabelo), indústria de alimentos e bebidas (atuando como solvente, adoçante e agente conservante) (TAN, AZIZ, AROUA, 2013). Além destas aplicações, algumas características do GLI, como sua solubilidade em água, baixo peso molecular, estrutura polar e não-volatilidade tornam esta substância apropriada para utilização como plastificante (DICK, et al., 2015). A aplicação do GLI como plastificante tem proporcionado melhorias nas propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis constituídos por polissacarídeos, reduzindo a coesão na rede do filme, enfraquecendo as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas e reduzindo a energia necessária para fornecer mobilidade a estrutura do filme (CAZÓN, et al., 2017; GONÇALVES, et al., 2019).

323

324

325

326

327

328

329

330

Os plastificantes são fluidos de baixo peso molecular e baixa volatilidade, que possuem capacidade para realizar interações com as cadeias dos materiais poliméricos na estrutura dos filmes (GONÇALVES et al., 2019). À presença de grupos polares (-OH) na cadeia dos plastificantes promove a substituição das interações polímero-polímero por interações de ligações de hidrogênio entre plastificante-polímero nos filmes (YANG, PAULSON, 2000). Esse efeito pode aumentar a elasticidade do material final, pois o glicerol atua como um agente espaçador de cadeias poliméricas.

331

332

333

334

As interações plastificante-polímero propiciam modificações nas propriedades dos filmes, seja pelo aumento da flexibilidade, elasticidade (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018), efeito protetor contra radiação ultravioleta (CÁZON, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018), barreira contra permeação de vapores

335 de água e gases (CIANNAMEA, et al., 2018) e melhoria das propriedades
336 mecânicas e outras (CÁZON, et al., 2017; DOMÍNGUEZ, et al., 2018, SUDERMAN,
337 et al., 2018). Nesse panorama, a aplicação do GLI em filmes à base de
338 polissacarídeos, visando o preparo de embalagens alimentícias têm sido
339 amplamente requisitada em virtude dos benefícios promovidos aos filmes (CAZÓN,
340 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019).

341 A presença do GLI nos filmes pode modular as propriedades mecânicas do
342 material. Este efeito decorre devido à molécula de GLI ser pequena quando
343 comparada às cadeias poliméricas. Assim, este plastificante é capaz de penetrar
344 entre as cadeias enfraquecendo as interações entre espécies poliméricas
345 promovendo aumento de flexibilidade (SUDERMAN, ISA, SARBON, 2018). As
346 propriedades mecânicas são parâmetros importantes na produção de embalagens
347 para alimentos, pois boa resistência mecânica garante integridade ao material final
348 durante o transporte, manuseio e armazenamento (CAZÓN, VÁZQUEZ,
349 VELAZQUEZ, 2018). O desempenho de filmes depende de parâmetros como
350 resistência à tração, porcentagem de alongamento até a ruptura, natureza dos
351 componentes presentes na estrutura do filme, metodologia de preparo, condições
352 de processamento, e outras (CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019). Todos
353 esses fatores podem ser modulados com base no uso de um agente plastificante.

354 Outras propriedades como a barreira a vapor de água, gases e radiação
355 ultravioleta são aspectos fundamentais utilizados para determinar o prazo de
356 validade de um filme quando utilizado em embalagens alimentícias. A radiação
357 ultravioleta é a principal responsável por oxidar os lipídios presentes em alimentos.
358 A oxidação promove degradação do alimento, levando à formação de aldeídos e
359 cetonas de baixo peso molecular que promovem o surgimento de sabores e odores
360 indesejáveis, diminuindo o tempo de vida útil de alimentos embalados (CAZÓN,
361 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019).

362 As propriedades ópticas de filmes estão relacionadas ao tipo de plastificante
363 e a sua concentração no material. Para o GLI, o aumento de sua proporção na
364 matriz do material acarreta em um aumento da transmissão de luz ultravioleta e luz
365 visível, pelo fato do GLI geralmente reduzir a compactação da matriz do filme,
366 propiciando maior transmissão de luz. O GLI aumenta a transparência dos filmes,
367 modificando o índice de refração do material (SUDERMAN, ISA, SARBON, 2018).

368 Além das propriedades promovidas pelo uso do GLI como agente
369 plastificante, a escolha dos polissacarídeos que irão compor a estrutura do filme
370 também deve influenciar nas propriedades dos materiais biodegradáveis obtidos
371 (ROCHA, et al., 2018). Dentre os polissacarídeos utilizados junto ao GLI em
372 embalagens para alimentos, destacam-se o alginato (AZIZ, et al., 2018), *kappa*-
373 carragena (FARHAN, HANI, 2017), celulose (CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ,
374 2018; CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019), quitosana (LAVORGNA, et al.,
375 2010, LOZANNO-NAVARRO, et al., 2016, PRIYARDASHI, KUMAR, NEGI, 2018,
376 RIAZ, et al., 2018) e pectina (BIERHALZ, SILVA, KIECKBUSCH, 2012; SARTORI,
377 et al., 2018).

378
379

1.5 QUITOSANA E PECTINA: PRODUÇÃO DE FILMES

380

381 A quitosana (QT) é um polissacarídeo produzido principalmente por meio
382 da reação de desacetilação alcalina da quitina (o segundo polissacarídeo mais
383 abundante da natureza), por meio da remoção de proteínas, hidrolisando os grupos
384 *N*-acetil randomicamente (TENTOR, et al., 2017; RAMBABU, et al., 2019). A quitina
385 é extraída do exoesqueleto de artrópodes (moluscos, crustáceos), esqueletos de
386 insetos e paredes celulares de fungos e leveduras (FERREIRA, et al., 2016;
387 ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018). A QT é classificada como um polissacarídeo
388 linear, de estrutura catiônica, composto por unidades *D*-glucosamina e *N*-acetil-*D*-
389 glucosamina interligadas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ (Fig. 4) (RIAZ, et al.,
390 2018).

391

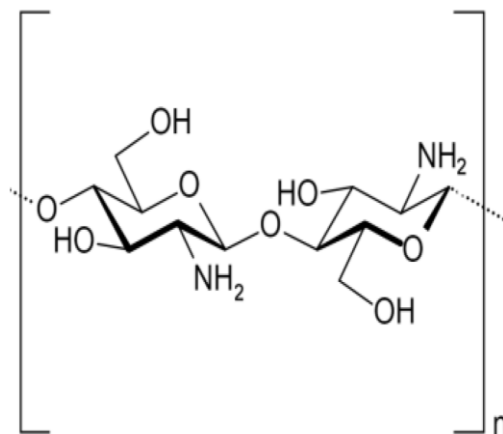


Figura 4. Estrutura química da quitosana (unidades desacetiladas).

Fonte: Autoria própria.

392
393

394

395

396

397 A QT apresenta inúmeras propriedades, como por exemplo, baixa
398 toxicidade, biodegradabilidade, citocompatibilidade, propriedades antimicrobianas,
399 antioxidante e permeabilidade aos gases O₂ e CO₂ (CAZÓN, et al., 2017;
400 ANSORENA, et al., 2017; ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018). Essas propriedades
401 oferecem proteção contra contaminantes e deterioração microbiana, prolongando a
402 validade e qualidade dos alimentos (MARTÍNEZ-CAMACHO, et al., 2010). Portanto,
403 a QT possui propriedades atrativas que a torna propícia para aplicação em
404 embalagem para alimentos (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018).

404

405

406

407

408

409

410

411

412 Apesar de suas propriedades únicas e numerosas vantagens, os filmes de
413 QT exibem propriedades mecânicas inadequadas para produção de embalagens.
414 Além disso, são altamente permeáveis ao vapor de água, (ANSORENA, et al.,
415 2017). Essas propriedades prejudicam sua aplicação em embalagens alimentícias,
416 pois um controle efetivo de umidade é uma propriedade essencial para preservação
417 (CAZÓN, et al., 2017; ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018; SONI, et al., 2018).
418 Nesse contexto, a QT deve ser associada a outros materiais para transpor essas
419 limitações (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016; CAZÓN, et al., 2017).

412

413

414

415

416

417

418 Outro polissacarídeo que tem recebido destaque na produção de filmes é a
419 pectina (PT). A PT é um polissacarídeo aniônico, de estrutura complexa, composta
420 por unidades lineares de ácido D-galacturônico (65%) interligados por ligações
421 glicosídicas α(1→4) parcialmente O-metoxiladas (Fig. 5) (MARTINS, et al., 2018a;
422 TENTOR, et al., 2017). As cadeias lineares do ácido D-galacturônico apresentam
423 grupos laterais complexos, classificados em homogalacturonano (HG),

418 ramnogalacturonano-I (RG I), ramnogalacturonano-II (RG II), xilogalacturonano
 419 (XG) e arabinogalactano (AG) (Fig. 5) (TENTOR, et al., 2017; FACCHI, et al., 2017).
 420

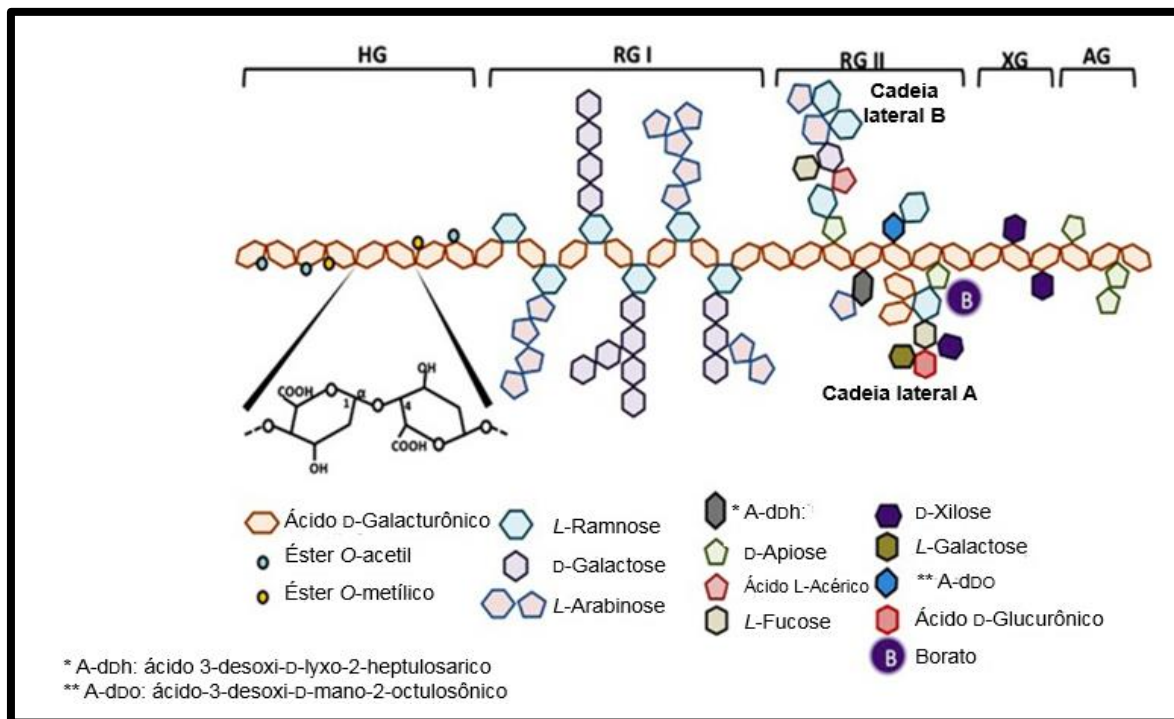


Figura 5. Estrutura da pectina.

Fonte: FACCHI et al., (2017) (com adaptações).

424

425 A PT é um componente estrutural das paredes celulares das plantas, sendo
 426 encontrada em sementes, raízes, flores, folhas e frutos. A PT fornece resistência
 427 mecânica às plantas, principalmente em árvores frutíferas (laranjeiras, limoeiros e
 428 macieiras) (FACCHI, et al., 2017). Similarmente à QT, a PT apresenta algumas
 429 propriedades que a possibilita seu uso para produção de embalagens
 430 biodegradáveis para alimentos. Destacam-se as propriedades de permeabilidade a
 431 gases, biodegradabilidade, baixa toxicidade e citocompatibilidade (CAZÓN, et al.,
 432 2017; NISAR, et al., 2018). Apesar de suas propriedades benéficas, filmes de PT
 433 não apresentam atividade microbiana e, também possuem elevada permeabilidade
 434 ao vapor de água (CAZÓN, et al., 2017).

435

436 Uma alternativa viável para transpor essas limitações foi apresentada
 437 recentemente pelo nosso grupo de pesquisa, o qual desenvolveu uma nova
 438 metodologia para criar filmes duráveis e resistentes a base de PT e QT (MARTINS,
 et al., 2018a; MARTINS, et al., 2018b). Foi reportado, que a combinação de PT e

439 QT (sem uso de plastificante) promoveu formação de filmes estáveis e resistentes
440 (MARTINS, et al., 2018a). Para isso, Martins e colaboradores (2018a)
441 desenvolveram filmes de PT e QT por meio de interações eletrostáticas (complexos
442 polieletrólíticos), alterando as proporções dos polissacarídeos precursores na matriz
443 do material. Martins e colaboradores (2018a) obtiveram altos rendimentos de
444 complexação (até 93%), demonstrando que o excesso de PT (67%) propiciou
445 melhores resultados quanto à durabilidade, citocompatibilidade, resistência à tração
446 (27 MPa) e ainda capacidade para promover adesão, proliferação e espalhamento
447 de células tronco do tecido adiposo em sua superfície (MARTINS, et al., 2018a). No
448 entanto, os filmes obtidos apresentaram baixa elasticidade ($\varepsilon < 2\%$).

449
450

1.6 MATERIAIS FÍSICOS DE PECTINA/QUITOSANA E APLICAÇÕES

451

452 Hidrogéis físicos são comumente denominados de (PECs), sendo obtidos
453 por meio de interações iônicas e intermoleculares entre pares de polímeros (um
454 polication e um poliânion) em solução aquosa. As interações eletrostáticas ocorrem
455 entre grupos de cargas opostas em meio aquoso (MARTINS, et al., 2018b).
456 Condições de pH, temperatura, densidade de carga, força iônica, tipo de polímero
457 usado para o preparo de PECs e outras condições influenciam nas propriedades
458 dos materiais físicos. Busca-se obter PECs estáveis e duráveis que possam ser
459 aplicados como agentes adsorventes (RUFATO, et al., 2019), sistemas carreadores
460 de fármacos (BUENO, et al., 2015), agentes cicatrizantes com aplicação na área de
461 engenharia de tecidos (MARTINS, et al., 2018b) e outras. Nesta faceta, destacam-
462 se os PECs obtidos por meio da associação de soluções aquosas de PT e QT
463 (MARTINS, et al., 2018a; MARTINS, et al., 2018b; MACIEL, YOSHIDA, FRANCO,
464 2015).

465 As interações decorrentes para formação de PECs a base de PT/QT estão
466 relacionadas às interações eletrostáticas entre os grupos amino ionizados da
467 quitosana ($-\text{NH}_3^+$) e os grupos de ácido carboxílico ionizados na pectina ($-\text{COO}^-$).
468 Além disso, a presença de grupos funcionais polares (tais como $-\text{OH}$) em ambos
469 polissacarídeos torna possível o estabelecimento de interações intermoleculares de
470 ligação de hidrogênio entre os polímeros (LUO, WANG, 2014; MACIEL, YOSHIDA,
471 FRANCO, 2015).

472 Há relatos da produção de filmes e membranas à base de PT e QT
473 (YOUNIS, ZHAO, 2019; KOWALONEK, 2017; TSAI, et al., 2014). Na maioria dos
474 casos, os filmes foram preparados com excesso de QT na composição final do
475 material, partindo-se de PT com baixo grau de O-metoxilação. As membranas e
476 filmes obtidos não apresentaram propriedades mecânicas adequadas (2,0 MPa de
477 resistência à tração) (TSAI, et al., 2014) e, normalmente foram dissolvidos
478 rapidamente quando inseridos em água (CHEN, et al., 2010). A elevada efetividade
479 das interações eletrostáticas entre as cadeias de QT e PT promove materiais
480 quebradiços. Dois artigos publicados recentemente pelo nosso grupo de pesquisa,
481 evidenciaram que filmes de PT e QT preparados com excesso de pectina (com grau
482 de O-metoxilação elevado, 56%) podem apresentar resistência à tração de até 39
483 MPa (MARTINS, et al., 2018a). O elevado grau de O-metoxilação diminui a
484 efetividade das interações eletrostáticas na estrutura do filme, aumentando a
485 resistência. Além disso, esse efeito aumentou a durabilidade dos filmes contra
486 processos de dissolução, uma vez que a pectina com elevado grau de O-
487 metoxilação possui menor solubilidade aquosa em relação à pectina de baixo grau
488 de O-metoxilação.

489 Não há estudos prévios descrevendo a utilização de embalagens
490 biodegradáveis para alimentos constituídas por filmes de PT e QT incorporadas com
491 o agente plastificante GLI. Tripathi e colaboradores (2010) prepararam filmes de
492 pectina/quitosana/álcool polivinílico para aplicação em embalagens de alimentos.
493 Os autores não reportaram sobre as propriedades mecânicas dos filmes; porém,
494 testes antimicrobianos indicaram ação dos filmes contra *Escherichia coli*,
495 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e o fungo *Candida albicans*. Esses
496 resultados indicam que esses filmes possuem potencial para serem utilizados como
497 embalagens para alimentos (TRIPATHI, MEHROTRA, DUTRA, 2010). No entanto,
498 a desvantagem é o alto valor comercial do polímero sintético álcool polivinílico.

499 Assim, esse estudo busca associar o GLI em filmes de PT e QT já obtidos
500 por nosso grupo de pesquisa, visando o preparo de filmes estáveis, flexíveis e
501 resistentes, para garantir a integridade dos alimentos e sua utilização como
502 embalagens alimentícias. Os filmes foram formados mantendo a concentração de
503 PT e QT (razão massa/massa de PT/QT = 67/23) fixas e alterando a concentração

504 de GLI no filme. Pela primeira vez, filmes de PT/QT/GLI serão preparados e
505 utilizados como embalagens biodegradáveis para alimentos.

506
507

2 OBJETIVOS

508
509

2.1 OBJETIVO GERAL

510

511 Obter hidrogéis físicos na forma de filmes a partir de polissacarídeos naturais
512 (pectina/quitosana) incorporados com o agente plastificante.

513
514

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

515

516 • Caracterizar os materiais por meio de microscopia eletrônica de varredura (SEM),
517 análise térmica (TGA/DTG), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS),
518 medidas de propriedades mecânicas (resistência à tração e módulo de elasticidade)
519 e medidas de ângulo de contato.

520 • Avaliar a capacidade antimicrobiana dos filmes;

521 • Avaliar a citotoxicidade dos filmes;

522 • Realizar estudos de propriedades de barreira a vapor de água, gás oxigênio e a
523 luz UV-Vis;

524 • Propor uma nova embalagem plástica;

525

3 MATERIAIS E MÉTODOS

526

527

3.1 MATERIAIS

528

529 A pectina (PT) GENU® de massa molar de $190 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ com grau de
530 O-metoxilação de 56% foi extraída da casca de laranja e gentilmente doada pela
531 empresa CP Kelco Brasil (Limeira – SP, Brasil). Quitosana (QT) com massa molar
532 de $87 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ e grau de desacetilação 85% foi adquirida da Golden-Shell
533 Biochemical (China). Glicerol (99%, GLI) foi obtido da Sigma-Aldrich (Brasil).

534

535

3.2 PREPARO DOS FILMES

536

537 Soluções de PT e QT (1,0% m/v) foram preparadas separadamente em
538 solução aquosa de HCl ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) por 10 min a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Blendas de PT/QT/GLI
539 foram obtidas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ pela adição de alíquotas de GLI em uma mistura de PT/QT
540 (30 mL), mantendo a concentração de PT em 67% (v/v) na blenda PT/QT. Após
541 adição do GLI, o sistema foi mantido em agitação por mais 5 min. O teor de GLI (%
542 massa) foi calculado considerando a massa total (0,30 g) de polissacarídeos em 30
543 mL de blenda PT/QT (Tabela 1).

544

545

Tabela 1. Condições experimentais utilizadas no preparo dos filmes.

| Filmes* | Solução de Pectina (mL)** | GLI (% m) |
|-------------|---------------------------|-----------|
| FA5 e FD5 | 20 | 5,0 |
| FA10 e FD10 | 20 | 10 |
| FA15 e FD15 | 20 | 15 |
| FA20 e FD20 | 20 | 20 |
| FA25 e FD25 | 20 | 25 |
| FA30 e FD30 | 20 | 30 |
| FA35 e FD35 | 20 | 35 |
| FA40 e FD40 | 20 | 40 |

546

*FA = filme não lavado; FD = filme lavado.

547

**Volume da solução de pectina (1,0 m/v) usado para preparar a blenda pectina/quitosana.

548

549 Após 5 min, as blendas PT/QT/GLI (60 °C) foram adicionadas em placa de
550 Petri (placa esférica com dimensão de 85 × 10 mm) e alocadas em estufa a 35 °C
551 por 24 h. Posteriormente, os filmes produzidos foram removidos das placas de Petri
552 e adicionados em água deionizada (200 mL) a 25 °C para promover a lavagem dos
553 mesmos. Os filmes lavados foram rotulados nesse estudo como FDX, onde X indica
554 o teor de GLI (%) na blenda PT/QT (Tabela 1). O processo de lavagem decorreu
555 por um período de 8 h, realizando a troca da água deionizada (200 mL) a cada 1 h,
556 até que o pH da água de lavagem estivesse na faixa de 5,0 a 5,5. Após lavagem,
557 os filmes foram secos em estufa por 24 h a 35 °C. Filmes não lavados também foram
558 obtidos, sendo esses rotulados como FAX (X = teor (%) de GLI na blenda PT/QT
559 (Tabela 1).

560
561

3.3 CARACTERIZAÇÃO

562
563

3.3.1 Medidas das Propriedades Mecânicas

564

565 Para determinar as espessuras dos filmes (amostras com dimensões de 50
566 × 25 mm) foi utilizado um micrômetro digital (modelo ZAAS). A obtenção do
567 resultado médio da espessura foi realizada por meio de cinco medições na área
568 total de cada amostra (50 × 25 mm). Para analisar as propriedades mecânicas, em
569 específico, a resistência à tração (σ), o alongamento ($\epsilon\%$) até a ruptura do filme,
570 bem como obter curvas de σ em função de $\epsilon\%$, foi utilizado um texturômetro
571 MicroSystems, modelo TATX2i Surrey (Inglaterra). As medidas foram realizadas
572 conforme o método ASTM-D882-02 (ASTM, 2002). Para isso, as amostras (50 × 25
573 mm), a princípio, foram alocadas em uma solução saturada de $Mg(NO_3)_2$ a $25 \pm 2^\circ C$
574 por 48 h e umidade relativa de $53 \pm 2\%$. A velocidade de realização do teste foi
575 regulada para $0,83 \text{ mm s}^{-1}$ (célula de carga de 50 kg) com distância inicial de 30
576 mm entre as alças. O estabelecimento dos parâmetros σ (MPa) e ϵ (%) decorreram
577 por meio de cinco repetições. As medidas das propriedades mecânicas foram
578 realizadas na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

579
580

3.3.2 Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raio-X

581

582 A análise química da superfície dos filmes de PEC/QT/GLI foi conduzida por
583 um Espectrômetro Eletrônico PHI-5800 (Chanhassen, MN). A obtenção dos
584 espectros decorreu por uma fonte de raios X monocromática Al de radiação $K\alpha$ ($h\nu$
585 = 1486,6 eV) juntamente com um analisador hemisférico e um detector multicanal.
586 Os espectros de alta resolução foram obtidos com um analisador, operando sob as
587 seguintes condições: energia de passagem de 23,5 eV, passos de 0,1 eV, ponto de
588 raio-X de 800 μm e ângulo de retirada de fotoelétrons ajustado para 45° . As curvas
589 espectrais foram ajustadas por meio do programa Origin 8.5. A altura de cada pico
590 foi ajustada, preservando respectivamente a sua posição, a sua metade máxima de
591 largura (fwhm) e porcentagem de função Gaussiana fixos (ROMERO, et al., 2015).
592 Essa análise foi realizada na Colorado State University (CSU, USA).

593
594

3.3.3 Medidas de Ângulo de Contato

595

596 Medidas do ângulo de contato das superfícies dos filmes foram
597 determinadas por meio do método da gota séssil, utilizando um goniômetro de
598 ângulo de contato Krüss DAS 10 (Hamburgo, Alemanha) equipado com captura de
599 vídeo. Para isso, uma gota de água foi depositada na superfície dos filmes e
600 imagens capturadas em intervalos de zero e 10 min após o contato da gotícula de
601 água com a superfície. Os valores de ângulo de contato foram monitorados em um
602 intervalo de 10 min por meio de um software de imagem DAS 10. Em cada
603 superfície, foram realizadas três medidas de ângulo de contato em regiões distintas.
604 Essa análise foi realizada na Colorado State University (CSU, USA).

605
606

3.3.4 Análise Termogravimétrica

607

608 Análise termogravimétrica (TGA) foi realizada por meio de um analisador
609 termogravimétrico Shimadzu TGA-50 (Japão). O TGA foi operado nas seguintes
610 condições: taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, fluxo de argônio de 50 mL min^{-1} e
611 faixa de temperatura de 25 a $600\text{ }^\circ\text{C}$.

612

613

614

3.3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura

615

616 A morfologia dos filmes foi investigada por meio da técnica de microscopia
617 eletrônica de varredura (SEM), utilizando um microscópio eletrônico de varredura
618 JSM-6500F, JEOL (Japão) operando a 5 kV. Inicialmente, as amostras foram
619 revestidas com uma fina camada de ouro-paládio a uma espessura de 10 nm (10 –
620 15 mA, sob vácuo de 130m Torr) para propiciar a visualização das imagens SEM.
621 Essa análise foi realizada na Colorado State University (CSU, USA).

622

623

3.4 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

624

625 Células tronco do tecido adiposo humano (células ADSC) foram cultivadas
626 em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) com 10% de soro fetal bovino
627 e 1,0% de penicilina/estreptomicina a 37 °C e 5% de CO₂. Antes de semear as
628 células de passagem dois, discos de 8,0 mm de cada filme foi fixado com fitas de
629 carbono sobre discos de Teflon (8,0 mm). Em seguida, essas amostras foram
630 esterilizadas com óxido de etileno através de um processo de alquilação a 40 °C
631 durante 120 min. Esse processo foi realizado por G&S esterilização e produtos de
632 saúde (Maringá, Brasil) (TENTOR, et al., 2017). A citotoxicidade dos filmes sobre
633 células ADSC foi determinada utilizando um kit de ensaio de citotoxicidade de
634 lactato desidrogenase (LDH) disponível comercialmente.

635

636 O kit de citotoxicidade LDH (Thermo Scientific, USA) é um método
637 colorimétrico utilizado para quantificar a citotoxicidade. A LDH é uma enzima
638 citosólica presente em diferentes tipos de células. A LDH extracelular no meio pode
639 ser quantificada por meio da ocorrência de uma reação enzimática acoplada. A LDH
640 catalisa a conversão de lactato em piruvato via redução de NAD⁺ em NADH. O
641 NADH participa diretamente na redução do sal de tetrazólio (INT) em vermelho de
642 formazan. O vermelho de formazan pode ser quantificado por medidas de UV-Vis
643 em 490 nm. A concentração do vermelho de formazan é diretamente proporcional
644 à concentração de LDH liberada no meio (atividade de LDH). A presença de LDH é
645 um indicativo de citotoxicidade.

645

646 As células ADSC (15000 células/poço) foram cultivadas em placas de 48
647 poços na presença dos filmes, poliestireno (PS, filme de 8,0 mm, controle negativo),

647 e Triton X (controle positivo, solução 1,0 vol. %). Após 24 h de incubação, a atividade
648 de LDH liberada no meio de cultura foi determinada pela transferência de 100 µL do
649 meio para uma nova placa de 96 poços. Então, procedeu-se a adição de 100 µL da
650 mistura de reação (96% vol/vol da solução tampão do kit LDH, 1,0% vol/vol NAD⁺,
651 1,0%, vol/vol de ácido láctico, 1,0 % vol/vol do sal INT e 1,0% vol/vol LDH diaforase)
652 ao meio de cultura (100 µL) para quantificar a LDH liberada das células ADSC
653 devido à ação citotóxica das amostras. Após 30 min de incubação (temperatura
654 ambiente), a absorbância da mistura (200 µL) foi medida (490 nm) em um
655 espectrofotômetro de placas para determinar a atividade de LDH (PIERCE LDH
656 CYTOTOXICITY ASSAY KIT 88953). A citotoxicidade (%) das amostras foi
657 calculada por meio da Equação 1.

658

$$659 \quad \text{Citotoxicidade (\%)} = (\text{LDHa} - \text{LDHe}) / (\text{LDHt} - \text{LDHe}) \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

660

661 onde, LDHa = atividade de LDH promovida pelos filmes, LDHe = atividade de LDH
662 espontânea que ocorre na presença de PS, LDHt = atividade de LDH máxima
663 promovida pelo controle Triton X na concentração 1,0 vol%. Essa análise foi
664 realizada na Colorado State University (CSU, USA) com $n = 5$.

665

666

3.5 ENSAIO ANTIMICROBIANO

667

668

3.5.1 Microrganismo Utilizado e Condições de Crescimento

669

670 Os ensaios antimicrobianos foram realizados utilizando cultivos recentes
671 dos isolados de *Escherichia coli* (Gram negativa - ATCC 25922) em caldo BHI (Brain
672 Heart Infusion), obtidos após incubação (24 h) a 37 °C. Para realização dos testes,
673 a densidade celular foi padronizada em tubos esterilizados contendo solução salina
674 (0,85% m/v), até a concentração predita de 0,5 na escala de McFarland
675 (concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC ml⁻¹). Antes dos ensaios, as amostras foram
676 esterilizadas como relatado na Seção anterior.

677

678

679

3.5.2 Ensaio Antimicrobiano via Método Disco-Difusão

680

681 O ensaio foi realizado de acordo com as normas de CLSI (Clinical and
682 Laboratory Standards Institute) (CLSI, 2012). O meio de cultura utilizado foi o agar
683 Müeller-Hinton (MHA, pH 7,4) (Sigma Aldrich). A suspensão de *E. coli* foi semeada
684 com a ajuda de “swabs” esterilizados sobre a superfície de placas de Petri (placa
685 esférica com dimensão de 85 × 10 mm) contendo o meio de cultura. Sobre a
686 superfície do meio inoculado, foram depositados discos (6,0 mm) dos filmes ($n = 3$)
687 em triplicata. Todas as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C.

688

689

3.5.3 Ensaio de Adesão e Proliferação de *E. coli*

690

691 Os ensaios foram realizados conforme descrito por Martins e colaboradores
692 (MARTINS et al., 2020) com modificações. Suspensão (500 µL) de *E. Coli* (ATCC
693 25922) na concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC ml⁻¹ cultivada em MHA (37 °C por 24 h)
694 foi adicionado sobre discos (6,0 mm) dos filmes fixados em discos de poliestireno
695 (6,0 mm) com auxílio de fitas de carbono em uma placa de 48 poços. Após 24 h de
696 contato, as amostras foram removidas da placa de 48 poços e fixadas para análise
697 em microscopia eletrônica de varredura (SEM JSM-6500F), como relatado na Seção
698 3.3.2. As amostras foram fixadas com uma solução de glutaraldeído a 3% (Sigma)
699 contendo cacodilato de sódio 0,10 mol L⁻¹ (Sigma) e sacarose 0,10 mol.L⁻¹) por 45
700 min em temperatura ambiente. Após, as amostras foram lavadas com água
701 deionizada, esterilizadas, congeladas e liofilizadas. Imagens SEM das superfícies
702 dos filmes foram obtidas a 5 kV para análise da morfologia celular da *E. coli* aderida
703 sobre os filmes. Foram consideradas três amostras ($n = 3$) para cada filme. Ensaios
704 com discos de poliestireno foram usados como controle.

705

706

707

708

709 3.6 PROPRIEDADES DE BARREIRA

710
711 3.6.1 Permeabilidade

712
713 Para a análise de taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e taxa
714 de permeabilidade ao oxigênio (TPO₂) foram determinadas com os filmes FA40 e
715 FD15 (amostras cortadas em dimensões 5,0 × 5,0 cm). A TPVA foi medida em um
716 equipamento PERMATRAN, modelo W3/31, fabricado pela MOCON e pertencente
717 a Amcor Flexibles Latin America. A análise foi realizada segundo a norma *ASTM*
718 *F1249-90 (Standard Test Methods for Water Vapor Transmission Rate Through*
719 *Plastic Film and Sheeting Using a Modulated Infrared Sensor)* (ASTM F1249-90,
720 2001). Este ensaio foi realizado a 23 °C e 90% de umidade relativa, com padrão de
721 calibração de 5,21 g(m²/dia). A TPVA das amostras foi corrigida para condição de
722 37 °C e 90% de umidade relativa.

723 A TPO₂ foi medida em um equipamento Oxtran da MOCON Inc. pertencente
724 a Amcor Flexibles Latin America. Este aparelho é acoplado um sensor coulométrico
725 para detectar a transmissão de oxigênio através dos filmes. A TPO₂ foi determinada
726 de acordo com o método descrito na norma *ASTM D3985-02 (Standard Test*
727 *Methods for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting*
728 *Using a Coulometric Sensor)* (ASTM D3985-02, 2001). O ensaio foi realizado a 23
729 °C e 0% de umidade relativa para o oxigênio e para o gás de arraste.

730 3.6.2 Propriedade de Barreira a Luz

731
732 Os filmes FA15, FA40, FD15 e FD40 (1,0 × 1,0 cm) foram submetidos a
733 análise de propriedade de barreira a luz na região de 190 a 2500 nm. O teste foi
734 realizado em um espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 750) no modo
735 absorvância. Os valores de porcentagem de transparência a 600 nm foram
736 utilizados para calcular a transparência dos filmes por meio da Equação 2.

737
738
$$\text{Transparência} = \log \% T_{600} / X \quad (\text{Eq. 2})$$

739

740 onde $\%T_{600}$ indica a porcentagem de transmitância a 600 nm e X a
741 espessura do filme (mm). Este teste foi realizado em duplicata.

742
743

3.7 APLICAÇÃO COMO EMBALAGEM PARA ALIMENTOS

744

745 Um filme (15 × 8 cm) da amostra FA40 foi usado como embalagem para
746 tomates-cerejas. Um teste controle também foi realizado com o policroto de vinila
747 (PVC). O PVC se trate de um filme comercial usado como embalagem de tomates.
748 Antes de embalar os tomates com os filmes FA40 e PVC, os mesmos foram lavados,
749 secos e cortados ao meio. Os ensaios foram realizados em duas temperaturas (25
750 e 4 °C). Os tomates foram mantidos em embalagens a base dos filmes FA40 e PVC
751 por um período de 18 dias. Imagens digitais dos sistemas foram obtidas a cada 24
752 h.

753
754

3.8 ESTATÍSTICA

755

756 Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de ANOVA e
757 teste Tukey, utilizando o Software Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA,
758 USA) a um nível de significância de 5%.

759

760

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

761

762

4.1 PROPRIEDADES MECÂNICAS

763

764

765

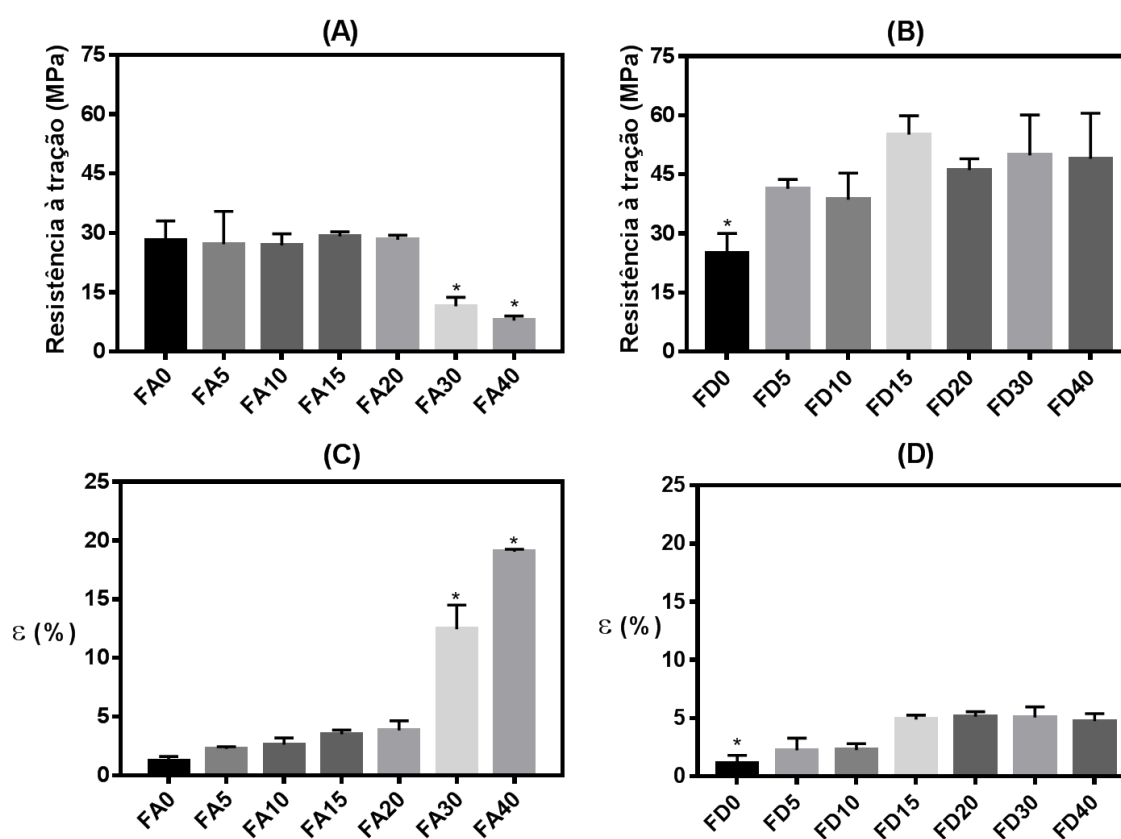
766

767

768

769

A resistência à tração consiste na tensão máxima suportada pelo filme antes de seu rompimento (CAZÓN, et al., 2017), enquanto, o alongamento até a ruptura reflete o grau de flexibilidade do material antes de sua ruptura (GONÇALVES, et al., 2019). As Figs. 6 e 7 apresentam os resultados dos valores médios de resistência à tração (σ) e alongamento até a ruptura ($\epsilon\%$), bem como curvas de tensão versus deformação de uma replicata de cada filme.



770

771

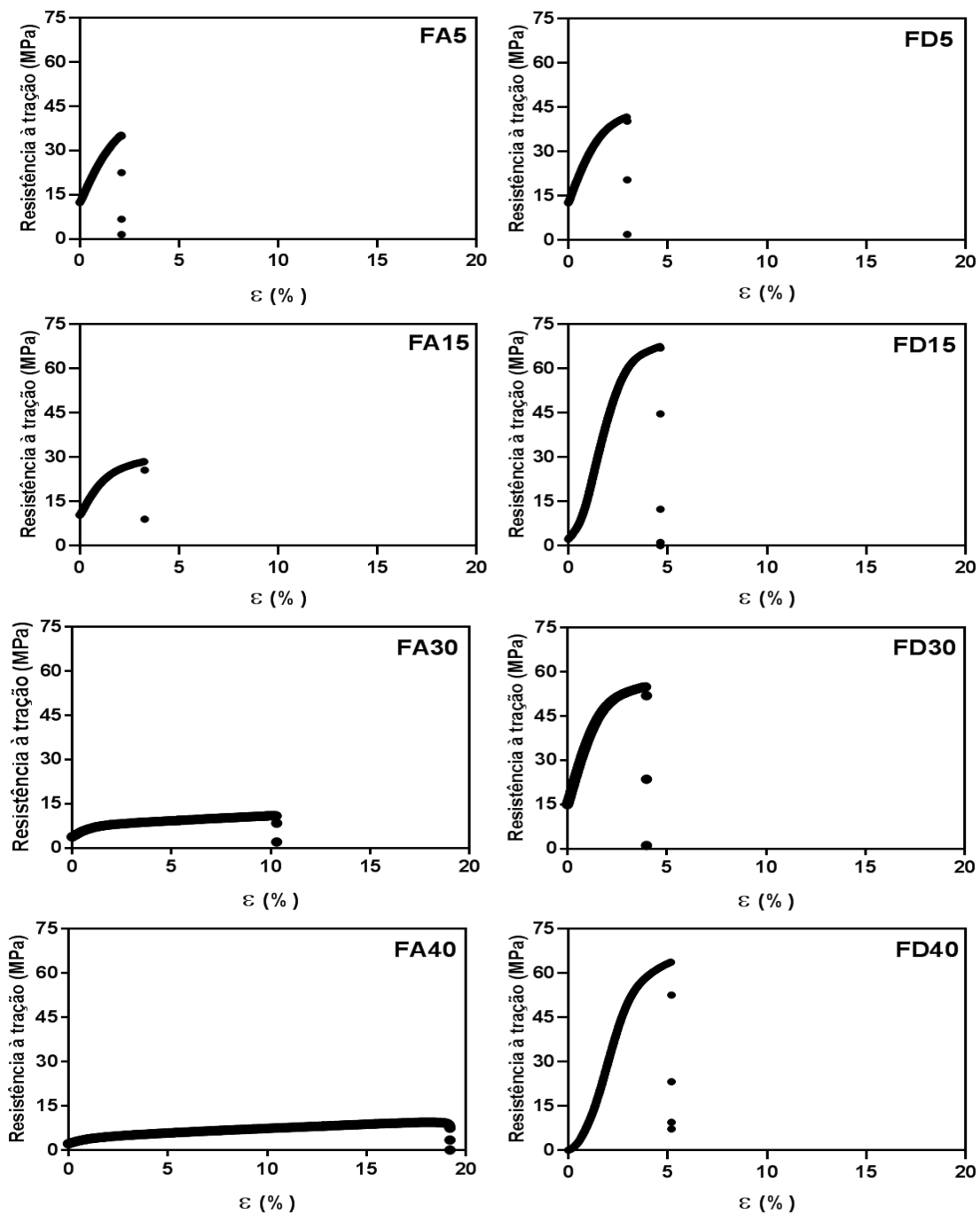
772

773

774

775

Figura 6. Medidas de resistência à tração (Figs. 6A e 6B) e resultados de $\epsilon\%$ (Figs. 6C e 6D) dos filmes não lavados e lavados na presença de GLI (5 a 40%). Diferenças significativas estão indicadas (* indica $p \leq 0,05$).



776

777

778

Figura 7. Curvas de tensão versus deformação dos filmes PT/QT obtidos com diferentes conteúdos de GLI.

779

780

781

782

783

784

Como esperado, a mudança do teor de GLI nas blendas alterou significativamente os valores de resistência à tração (σ) dos filmes. Após o processo de lavagem, os valores médios de resistência à tração aumentaram de 27 MPa (FA5) para 41 MPa (FD5), 26 MPa (FA10) para 38 MPa (FD10), 29 MPa (FA15) para 55 MPa (FD15), 28 MPa (FA20) para 43 MPa (FD20), 11 MPa (FA30) para 50

785 MPa (FD30) e 8 MPa (FA40) para 49 (MPa). No entanto, o aumento do teor de GLI
786 (faixa de 5 a 20%) não alterou significativamente a resistência à tração dos filmes
787 não lavados. Possivelmente, esse efeito pode estar relacionado ao baixo teor de
788 GLI em relação a massa de polissacarídeos. Entretanto, nos filmes com 30 e 40%
789 de GLI, houve uma redução significativa da resistência à tração ($p \leq 0,05$). Nessas
790 concentrações o GLI atuou como um agente plastificante na matriz dos filmes.

791 Após lavagem houve um aumento significativo da resistência à tração nas
792 amostras com teor de GLI a partir de 5% ($p \leq 0,05$). A lavagem dos filmes deve
793 promover remoção parcial do GLI das matrizes dos filmes. Portanto, o GLI não atuou
794 como um agente plastificante após a lavagem das amostras. Esse efeito resultou
795 em filmes com maior resistência à tração quando comparados aos filmes não
796 lavados. A remoção parcial do GLI das matrizes dos filmes pode ser justificada pela
797 maior resistência à tração dos filmes contendo GLI em relação ao filme puro sem
798 GLI (Fig. 6B). Então, após lavagem, provavelmente o conteúdo de GLI
799 remanescente na matriz dos filmes intensifica a ocorrência de interações,
800 aumentando a resistência à tração. De fato, deve ocorrer reorganização estrutural
801 das cadeias poliméricas após lavagem. Esse efeito ainda será melhor investigado.
802 Com base nos resultados de resistência à tração dos filmes lavados, parece que o
803 GLI remanescente ajudou a estabilizar os segmentos de cadeia de PT e QT,
804 aumentando a efetividade de interação no sistema. A caracterização dos filmes por
805 meio de medidas de ângulo de contato, XPS e TGA ajudará a entender o que de
806 fato ocorre com as matrizes dos filmes após o processo de lavagem.

807 O alongamento até a ruptura ($\epsilon\%$) reflete o grau de flexibilidade do material
808 antes de sua ruptura (GONÇALVES, et al., 2019). Os valores médios de $\epsilon\%$ estão
809 apresentados nas Figs. 6C e 6D. Esses resultados estão em acordo com os
810 resultados de resistência à tração. Ou seja, a inserção de GLI aumentou levemente
811 os valores de $\epsilon\%$ dos filmes FA quando comparado ao filme obtido sem GLI
812 (amostra FA0, Fig. 6C). Todavia, a partir da incorporação de 30 e 40% de GLI, houve
813 uma elevação significativa nos valores de $\epsilon\%$, sendo 12% para o filme FA30 e 19%
814 para o filme FA40 ($p \leq 0,05$). Nos filmes não lavados, conteúdos de GLI de 30 e
815 40% promovem enfraquecimento das interações entre as macromoléculas PT e QT,
816 aumentando o alongamento na ruptura e diminuindo a resistência à tração das
817 amostras (efeito do plastificante) (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018).

818 Esse efeito também é observado nos filmes FD; porém não houve diferença
819 significativa nos valores médios de $\varepsilon\%$ das amostras contendo GLI, mesmo em
820 concentrações baixas (5%). Esse efeito deve estar relacionado a parcial remoção
821 do GLI das matrizes dos filmes. Os valores de $\varepsilon\%$ dos filmes contendo GLI foram
822 significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) apenas em relação à amostra sem GLI (filme
823 FD0).

824 Os resultados das propriedades mecânicas deste trabalho foram melhores
825 em comparação a outros materiais. Filmes constituído de PT de maçã, QT, ácido
826 cítrico, GLI e tween 80 foram obtidos, usando ácido cítrico como agente reticulante
827 (YOUNIS, ZHAO, 2019). Filmes com resistência à tração entre 22 e 44 MPa com
828 alongamento até a ruptura de 1,0 a 6,5% foram obtidos e aplicados como
829 embalagens para alimentos (YOUNIS, ZHAO, 2019). Nesse estudo, os filmes
830 apresentaram valores médios de resistência à tração na faixa de 8 a 55 MPa e
831 alongamento até a ruptura na faixa de 2,0 a 19%. Além disso, é digno de destaque
832 nesse estudo, que não houve a incorporação de agentes tensoativos e agentes
833 reticulantes tóxicos nas matrizes dos filmes PT/QT incorporados com GLI.

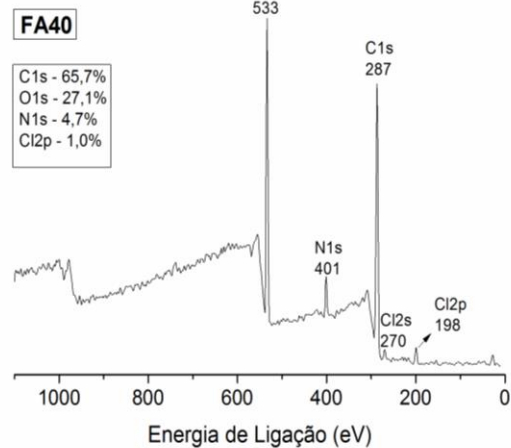
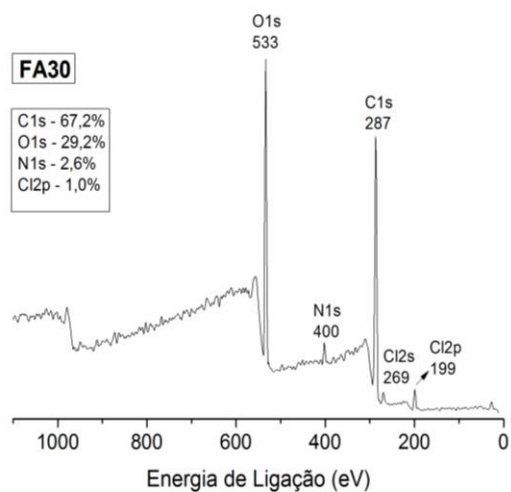
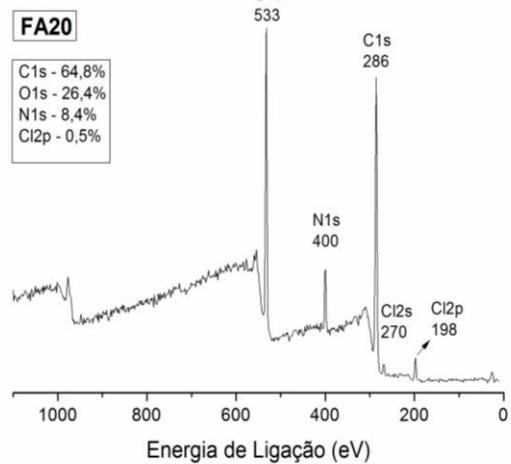
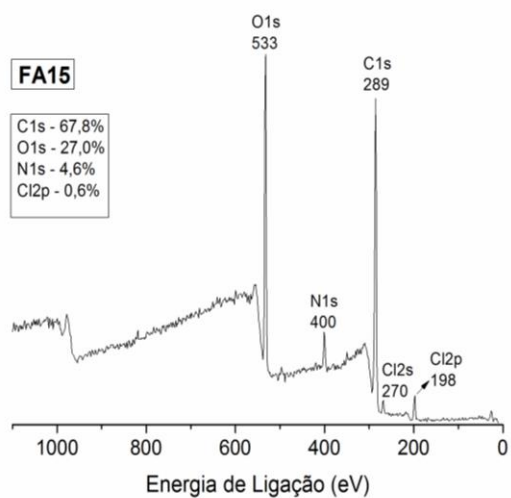
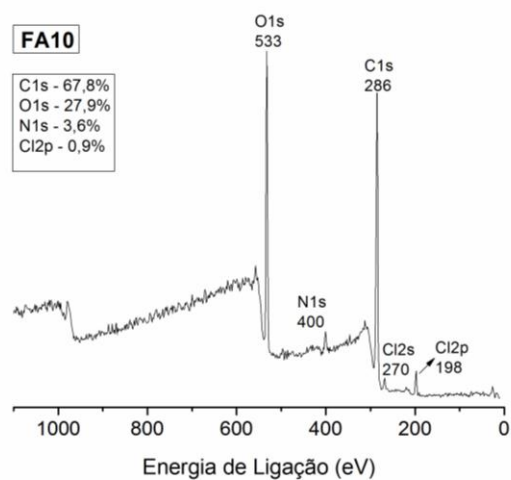
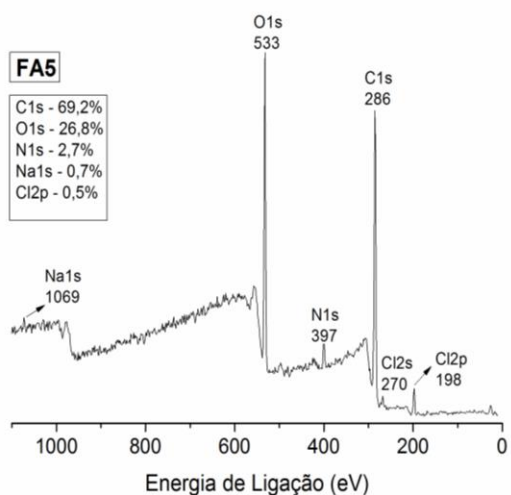
834
835

4.2 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIOS-X

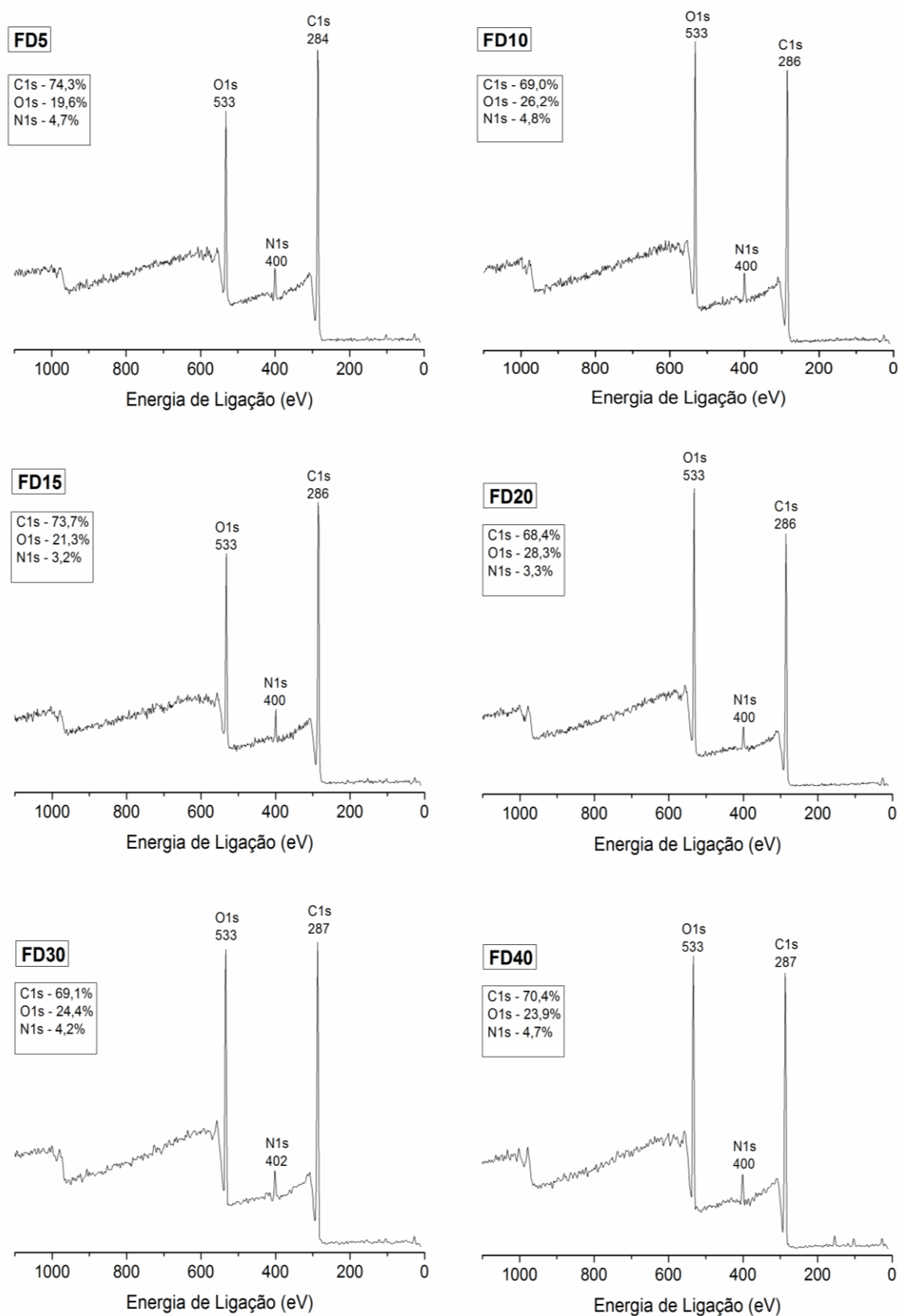
836

837 A composição química da superfície dos filmes foi caracterizada por meio
838 de XPS. Espectros XPS (survey) estão apresentados na Fig. 8. Todos os espectros
839 XPS mostram presença de picos característicos referentes aos elementos oxigênio
840 (O1s em 533 eV), nitrogênio (N1s em 397-401 eV) e carbono (C1s 284-289 eV).
841 Esses elementos estão presentes nas estruturas químicas da PT, QT e GLI. Em
842 relação à composição química de cada amostra, a presença de cloro (Cl2p = 198 e
843 199 eV) na superfície das amostras não lavadas está relacionada ao uso de HCl
844 0,10 mol L⁻¹ no preparo das blendas. No entanto, destacamos que mesmo sem
845 lavar, o conteúdo de Cl2p é baixo (entre 0,5 e 1,0%, Fig. 8). O excesso de HCl usado
846 no preparo das blendas deve evaporar no processo de secagem e, por isso, o
847 conteúdo de Cl2p é baixo na superfície dos filmes não lavados. Após lavagem, o
848 HCl residual é removido dos filmes, pois os espectros XPS não indicam presença
849 de picos Cl2p (Fig. 8). Esse fato confirma a eficácia do processo de lavagem dos
850 filmes. Devido ao baixo teor de Cl2p identificado na superfície dos filmes não

851 lavados, esse estudo busca comparar as propriedades dos filmes de PT e QT não
852 lavados e lavados.



854



855

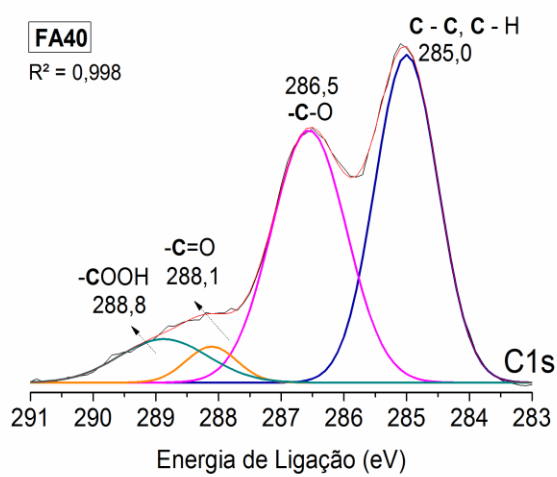
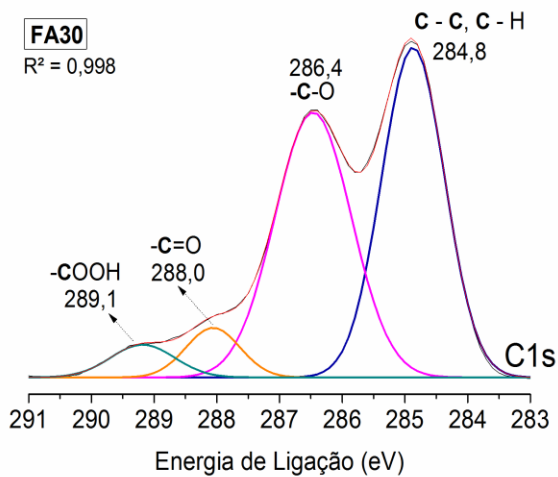
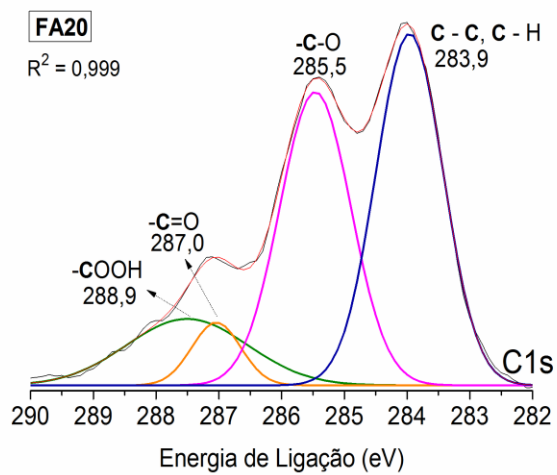
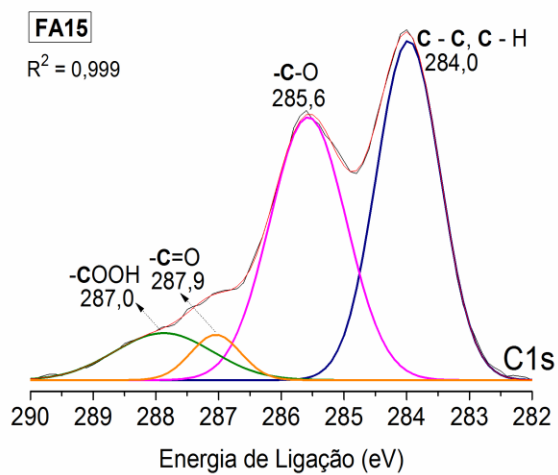
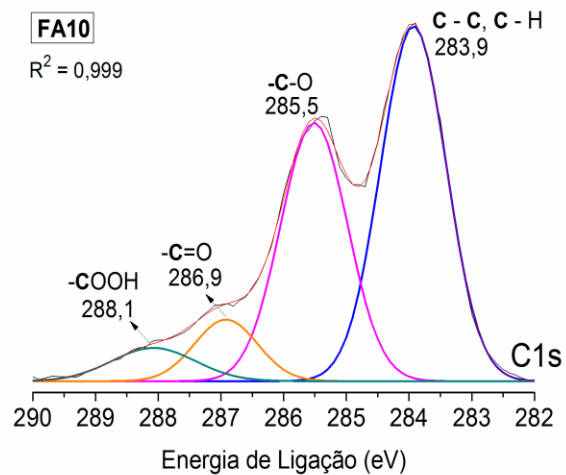
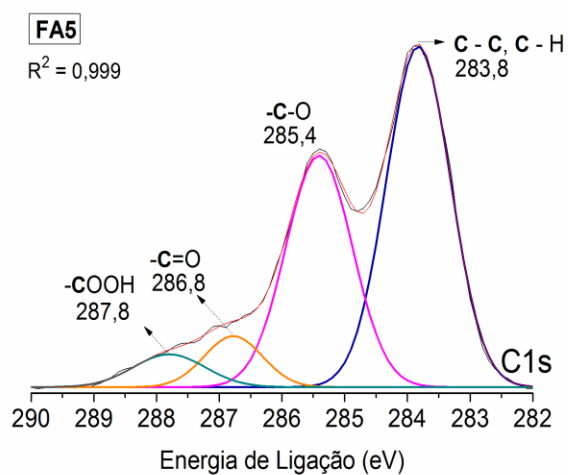
856

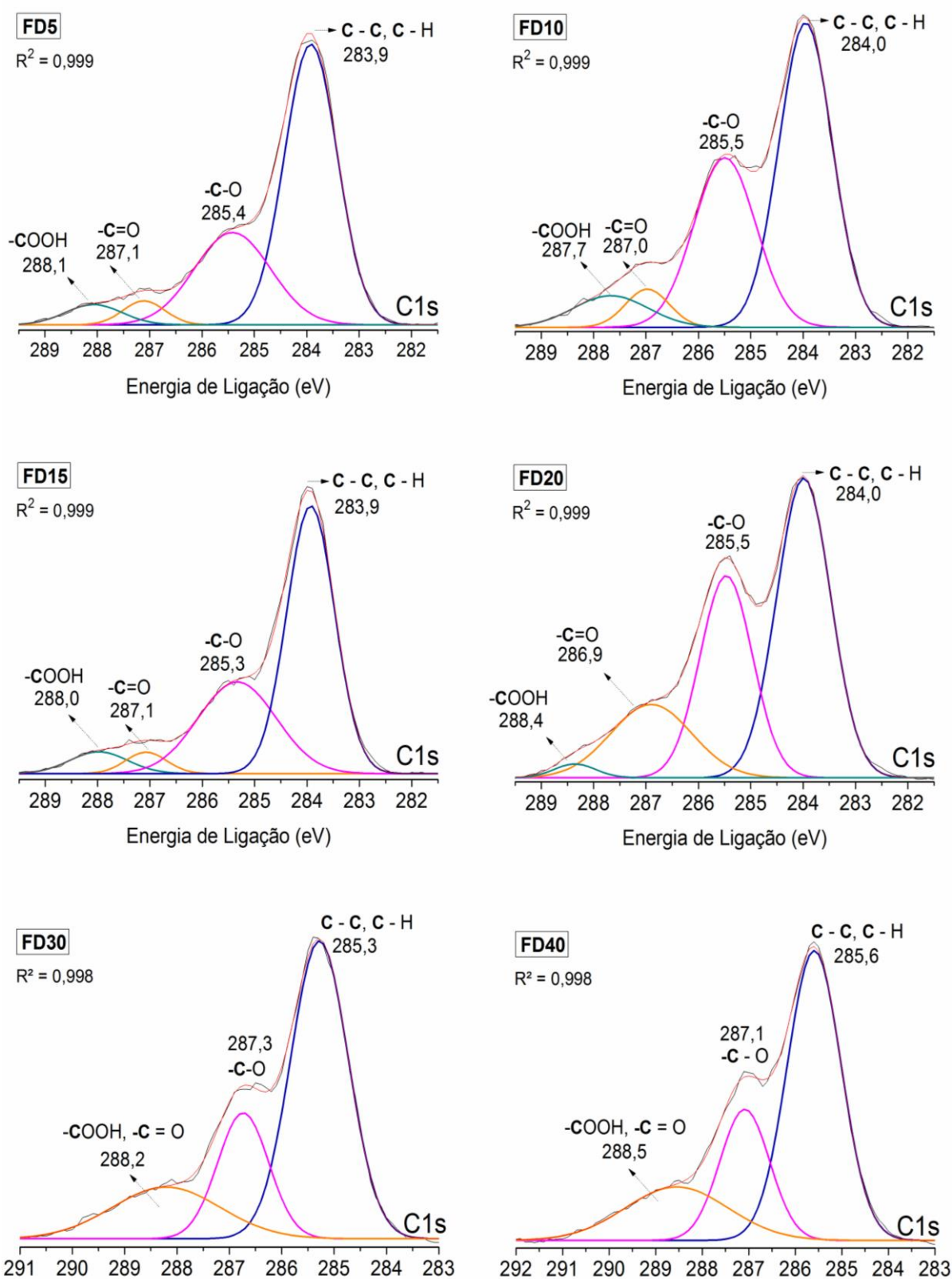
Figura 8. Espectros XPS (survey) das superfícies dos filmes não lavados (FA) e lavados (FD) contendo diferentes conteúdos de GLI.

857

858 Observou-se uma maior variação do conteúdo de N1s na superfície dos
859 filmes FA, variando de 2,6 a 8,4% (Fig. 8). A concentração de nitrogênio presente
860 na superfície das amostras pode variar mediante a região do filme que foi analisada.
861 Enfatizamos que a proporção de QT utilizada no preparo dos filmes foi constante
862 para todas as amostras (33% em relação ao conteúdo de PT). Os espectros XPS
863 dos filmes FD também indicaram alteração no conteúdo de N1s (3,2 a 4,8%, Fig. 8).
864 Porém, a variação no teor de N1s foi menor. O processo de lavagem deve
865 reorganizar as cadeias dos materiais para configurações mais estáveis, alterando o
866 conteúdo de QT na superfície dos filmes para valores próximos de 3,0 e 5,0%. O
867 efeito de reorganização estrutural será confirmado por meio da análise TGA. Nas
868 superfícies dos filmes FA, os conteúdos de C1s e O1s foram similares, sendo C1s
869 entre 64,8 e 69,2% e O1s entre 26,4 e 29,2%. Esse efeito é explicado uma vez que
870 PT, QT e GLI são majoritariamente constituídos por carbono e oxigênio. Depois da
871 lavagem, os conteúdos de C1s e O1s também são alterados. A porcentagem de
872 C1s na superfície dos filmes lavados variou entre 68,4 e 74,3%, enquanto a de O1s
873 alterou entre 19,6 e 28,3%.

874 Recentemente, mostramos que o filme puro PT/QT (filme lavado e obtido na
875 razão 67/23 m/m) apresentou teor C1s = 71,5%, O1s = 23,9% e N1s = 3,7%
876 (Martins, et al., 2018a). Com base nos resultados de XPS, não podemos afirmar
877 que parte do GLI está realmente presente na superfície dos filmes após lavagem.
878 No entanto, as alterações das propriedades mecânicas, indicam que sim, ou seja,
879 que o GLI pode estar presente na matriz dos filmes lavados. Assim, pequena
880 quantidade do GLI deve permanecer na estrutura dos filmes lavados.
881 Comparativamente, o teor C1s aumentou, enquanto o O1s diminuiu após a lavagem
882 dos filmes. Esse efeito se deve a remoção do GLI na superfície dos filmes após o
883 processo de lavagem. A análise dos espectros de XPS de alta resolução do
884 envelope C1s ratifica esse resultado (Fig. 9).





886

887

888

889

Figura 9. Espectros XPS de alta resolução de amostras não lavadas e lavadas: envelope C1s.

890 Os espectros na Fig. 9 mostram a presença de grupos químicos
891 característicos relacionados às estruturas dos polissacarídeos precursores e do
892 GLI. Destacam-se picos das ligações –C–C e –C–H (região de 283,8 a 285,6 eV),
893 –C–O (região de 285,3 a 287,3 eV), –C=O (região de 286,8 a 288,5 eV), e –COOH
894 (região de 287,0 a 288,9 eV). Os picos XPS foram atribuídos de acordo com
895 trabalhos publicados recentemente pelo nosso grupo de pesquisa (MARTINS, et al.,
896 2018a; OLIVEIRA, et al., 2019).

897 Nos espectros XPS de alta resolução das amostras não lavadas observou-
898 se aumento da intensidade do pico atribuído as ligações –C–O devido ao aumento
899 do teor de GLI nos filmes. Esse efeito é evidente a partir da concentração de 20%
900 (Fig. 9). Após lavagem, esse comportamento é desfeito. No geral, a intensidade do
901 sinal atribuído as ligações –C–O diminui após lavagem, indicando remoção do GLI
902 da superfície dos filmes (Fig. 9). O perfil dos envelopes nas amostras FD30 e FD40
903 são diferentes em relação aos demais. Observou-se sobreposição de sinais
904 referente aos grupos químicos –COOH e –C=O (Fig. 9). Esse efeito certamente está
905 relacionado ao processo de lavagem e, conseqüente reorganização estrutural da
906 matriz polimérica.

907
908

4.3 MEDIDAS DE ÂNGULO DE CONTATO

909

910 Medidas de ângulo de contato realizadas nas superfícies dos filmes
911 contendo (15, 30 e 40% de GLI) foram avaliadas para compreender o efeito da
912 adição do plastificante sobre a propriedade de molhabilidade. A Tabela 2 apresenta
913 as medidas de ângulo de contato realizadas nas superfícies dos filmes FA e FD
914 após 0 e 10 min de contato. Considerando as amostras FA, o aumento da
915 concentração de GLI promoveu maior hidrofiliabilidade aos filmes. Após 10 min, o
916 ângulo de contato medido foi de 72° (FA15), 63° (FA30) e 50° (FA40). A presença
917 de GLI aumenta a molhabilidade da superfície, uma vez que o GLI apresenta grupos
918 –OH polares, que interagem com moléculas de água via interações de ligação de
919 hidrogênio (XU, et al., 2019). A molhabilidade da superfície influencia diretamente
920 nas interações que podem ser estabelecidas com microrganismos (HANANI, 2018).

921

922
923**Tabela 2.** Medidas de ângulo de contato realizadas pela adição de uma gota de água na superfície dos filmes FA e FD ($t = 10$ min).

| Amostra | Ângulo (t_0 min) | Ângulo (t_{10} min) |
|----------------|--------------------------------------|---|
| FA15 | 107±6° | 72±4° |
| FA30 | 93±10° | 63±2° |
| FA40 | 112±8° | 50±3° |
| FD15 | 109±7° | 89±8° |
| FD30 | 93±4° | 78±5° |
| FD40 | 95±2° | 77±4° |

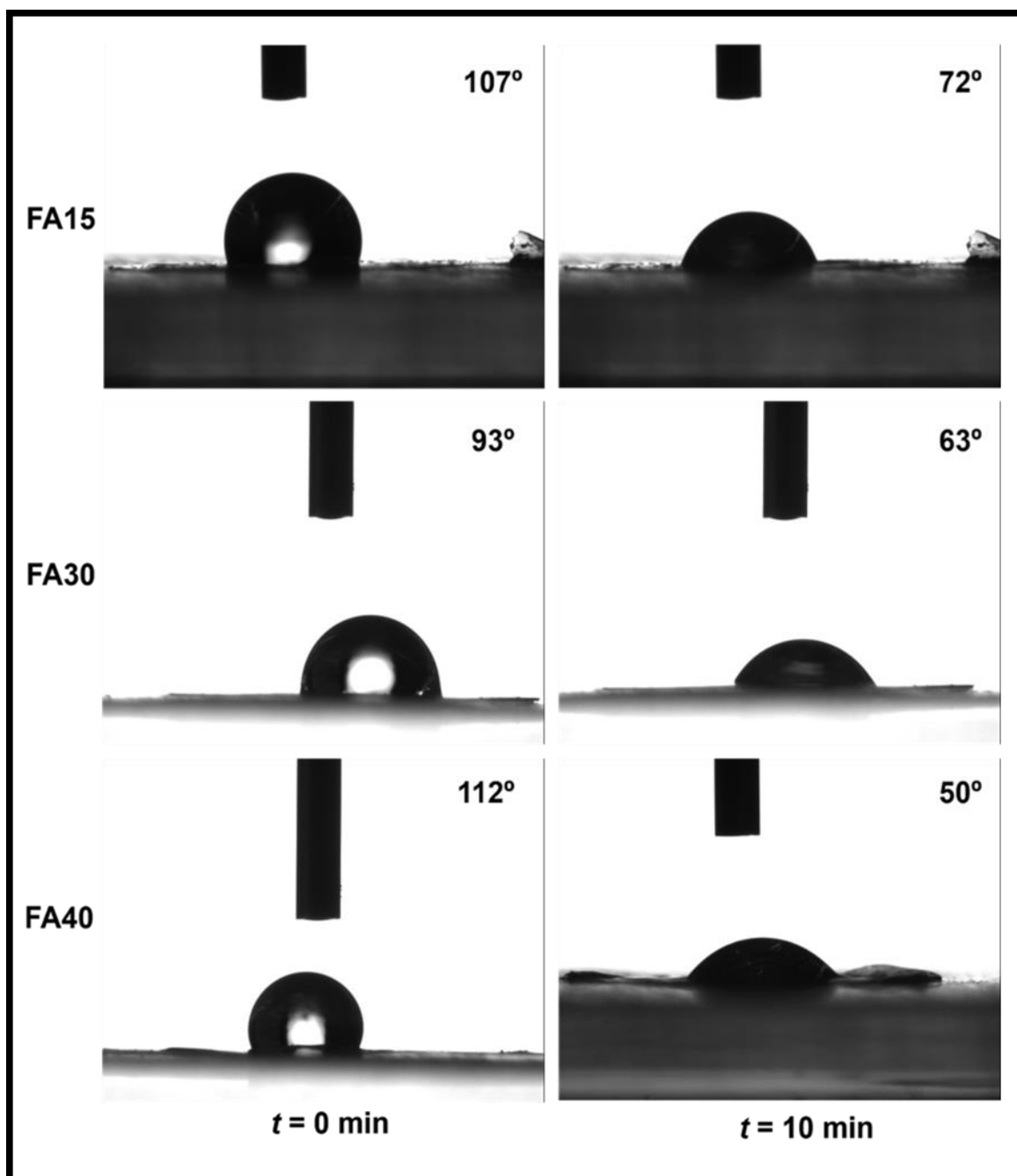
924

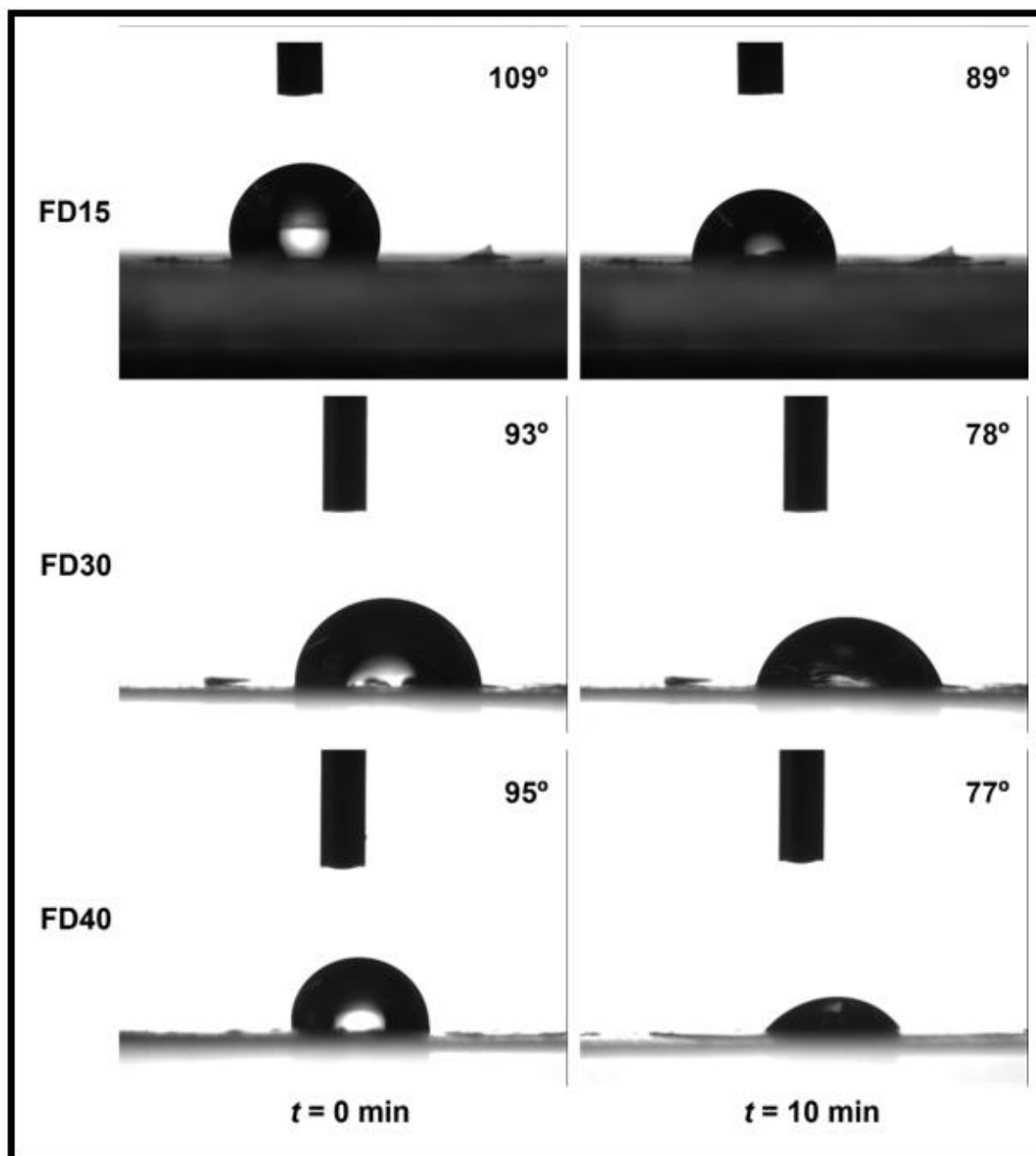
925 Com relação às amostras FD, após 10 min, observou-se valores de ângulos
 926 de contato de 89° (FD15), 78° (FD30) e 77° (FD40). A partir da amostra FD15, os
 927 ângulos de contato medidos sobre as superfícies dos filmes FD foram maiores em
 928 comparação com os valores obtidos nas superfícies das amostras FA. A lavagem
 929 altera significativamente as propriedades dos filmes. No caso das amostras FD15,
 930 FD30 e FD40 a lavagem parece favorecer a ocorrência de interações no material.
 931 O aumento da efetividade das interações promove valores de ângulo de contato
 932 maiores, tornando a absorção de água mais lenta. Esse resultado concorda com as
 933 medidas de resistência à tração já apresentadas (Seção 4.1), as quais indicaram
 934 elevados valores de σ (faixa de 48 a 55 MPa) para os filmes FD15, FD30 e FD40.
 935 A lavagem dos filmes deve promover uma reorganização estrutural das cadeias de
 936 PT, QT e GLI nos materiais, alterando completamente a molhabilidade das
 937 superfícies dos filmes. Filmes mais compactos devem levar um maior tempo para
 938 adsorver a gota de água. Assim, os filmes FD15, FD30 e FD40 apresentaram
 939 aumento de ângulo de contato após lavagem. Esse resultado também concorda
 940 com os dados de XPS, que possivelmente, indicaram a remoção do GLI da
 941 superfície dos filmes após lavagem. As medidas de ângulo de contato nos filmes
 942 lavados foram similares aos valores de ângulo de contato estimados sobre a
 943 superfície do filme puro lavado (FD0) de PT/QT (97° após $t = 0$ min e 79° após $t =$
 944 10 min) (MARTINS, et al., 2018a). Esse resultado confirma realmente que o GLI foi
 945 removido da superfície dos filmes após lavagem.

946

947 Os valores de ângulo de contato apresentados na Tabela 2 são ratificados por meio da análise das imagens digitais apresentadas na Fig. 10. As imagens

948 digitais das superfícies dos filmes obtidas após contato com uma gota de água em
949 diferentes intervalos de tempo ($t = 0$ e 10 min). Visualmente, constatou o aumento
950 do ângulo de contato nas superfícies das amostras FD15, FD30, FD40 em relação
951 às amostras FA15, FA30, FA40.
952





954
955

956 **Figura 10.** Imagens digitais das superfícies dos filmes após o contato com uma gota de água em
diferentes tempos ($t = 0$ e 10 min).

957

958 Superfícies hidrofílicas como deste trabalho, foram obtidas por Siracusa e
959 colaboradores (2018) ao produzirem filmes à base de óleo essencial de citral,
960 alginato e PT para aplicação em embalagens para alimentos. Os filmes foram
961 preparados pelo mesmo método reportado neste estudo. Foram preparados três
962 tipos de amostras (filme puro de 2,0% m/m de alginato de sódio; filme puro de 2,0%
963 m/m de PT; filme composto pela mistura de 1,0% (m/m) de alginato de sódio e 1,0%
964 m/m de PT). Para cada formulação foram adicionados 1,5% m/m de glicerol e 0,2%

965 m/m de Tween® 20. Diferentes conteúdos de óleo essencial de citral (0, 0,15 e 0,3%)
966 (m/m) foram incorporados nas amostras. Os resultados de ângulo de contato
967 apresentaram um alto caráter hidrofílico, variando o ângulo de contato entre 35° e
968 49°. Os autores observaram que a incorporação do óleo essencial de citral
969 proporcionou ângulos de contato maiores, em decorrência de sua natureza
970 hidrofóbica. Desta forma, o óleo essencial de citral diminui a molhabilidade dos
971 filmes (SIRACUSA, et al., 2018).

972 O caráter hidrofílico de filmes utilizados para embalagens alimentícias
973 também foi observado no trabalho de Norcino e colaboradores (2018), em que
974 desenvolveram filmes de PT e QT por meio de reticulação iônica. Foram preparados
975 filmes puros de PT e QT e, também, filmes QT/PT em proporção mássica de 75/25,
976 50/50 e 25/75. Medidas de ângulo de contato foram obtidas após 1 min. Todos os
977 filmes apresentaram característica hidrofílica. Os valores dos ângulos de contato
978 dos filmes puros foram de aproximadamente 85° para o filme de PT e 64° para o
979 filme de QT. Os filmes QT/PT apresentaram ângulos de contato de 74°, 87° e 88°
980 nas razões 75/25, 50/50 e 25/75, respectivamente. Os autores concluíram que estes
981 materiais podem ser utilizados como carreadores de medicamentos e embalagens
982 para produtos agrícolas e alimentares (NORCINO, et al., 2018). Certamente, a
983 molhabilidade da superfície de um filme é um parâmetro importante que deve
984 influenciar na aplicação de embalagem de alimentos.

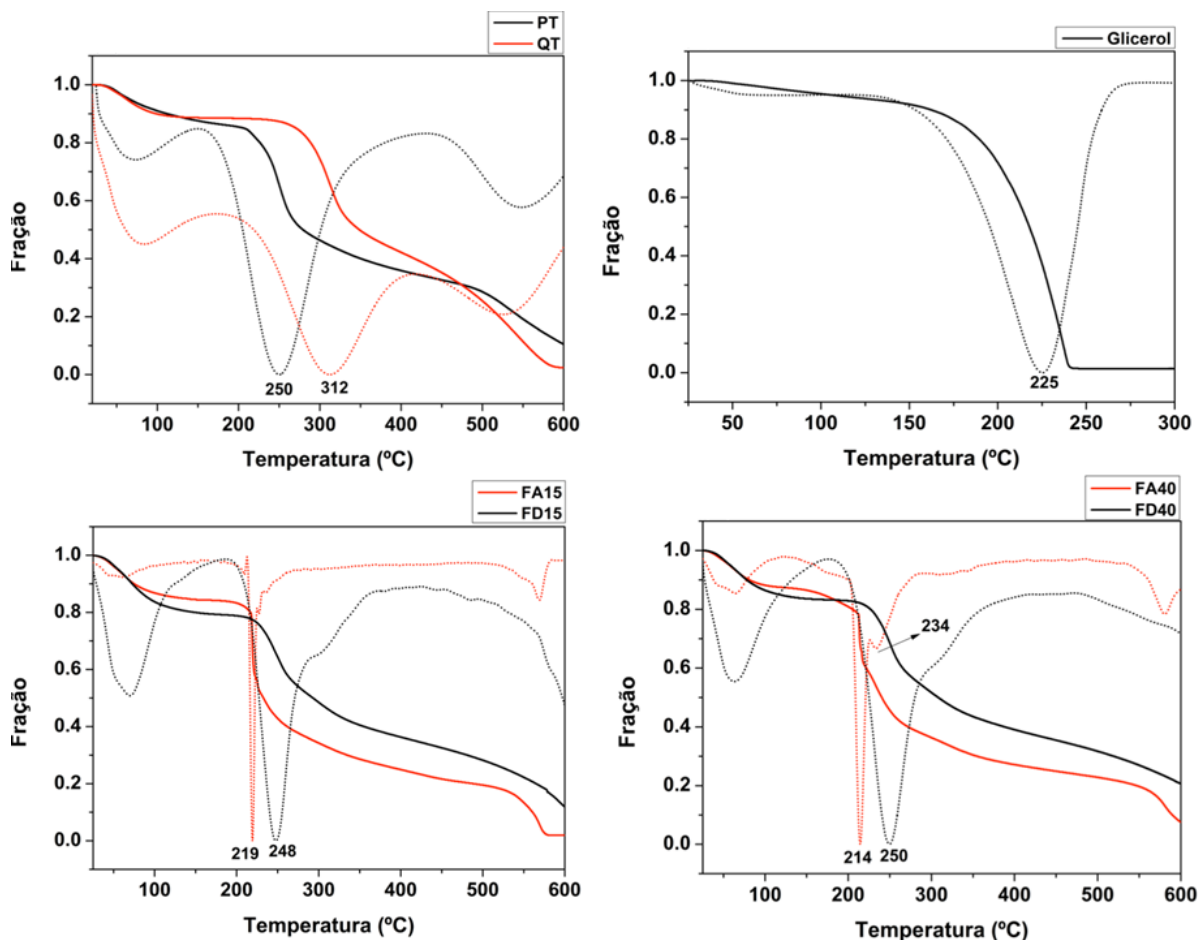
985
986

4.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

987

988 Os resultados de análise termogravimétrica (TGA/DTG) dos polímeros
989 precursores QT (pó) e um filme de PT puro não lavado e sem glicerol, glicerol puro,
990 dos filmes FA15 e FA40 (amostras não-lavadas) e filmes FD15 e FD40 (amostras
991 lavadas) são mostrados na Fig. 11. Os precursores QT e PT exibiram três eventos
992 principais nas curvas TGA/DTG (SOUTO-MAIOR et al., 2010; GORRASI; BUGATTI;
993 VITTORIA, 2012). O primeiro evento (entre 40 e 152 °C) corresponde a perda de
994 água e compostos voláteis. O segundo evento (entre 152 a 450 °C) é referente a
995 degradação das cadeias poliméricas (decomposição pirolítica). O terceiro evento
996 (entre 450 a 600 °C) está associado à degradação de subprodutos (MARTINS, et

997 al., 2018b). O GLI apresentou um evento de degradação característico em 225 °C,
 998 o qual corresponde à sua vaporização (DICK, et al., 2015; LECETA, et a., 2013).
 999



1000
 1002 **Figura 11.** Curvas TGA/DTG: QT (pó) e filme de PT puro não-lavado e sem GLI, GLI puro, filmes
 não lavados e lavados com 15 e 40% de GLI.

1003

1004 As curvas TGA/DTG dos filmes não lavados (FA15 e FA40) e lavados (FD15
 1005 e FD40) indicam um evento térmico referente a perda de água e componentes
 1006 voláteis. O conteúdo de água e materiais voláteis foram similares (16 a 20%, Fig.
 1007 11). No entanto, os filmes FD15 e FD40, apresentaram maior estabilidade térmica
 1008 em relação aos filmes FA15 e FA40. O segundo evento térmico, atribuído a
 1009 degradação dos filmes ocorrem deslocados para maiores temperaturas nas curvas
 1010 TGA dos filmes lavados (219 °C para o filme FA15, 248 °C para o filme FD15, 214
 1011 °C para o filme FA40 e 250 °C para o filme FD40, Fig. 11). No caso da amostra
 1012 FA40, observou-se um evento em 234 °C que deve ser atribuído a presença de GLI
 1013 na amostra.

1014 Estes resultados corroboram com os dados obtidos nos ensaios
1015 mecânicos. O aumento de estabilidade térmica nas amostras FD15 e FD40 se deve
1016 à reorganização estrutural das cadeias de PT, QT e GLI nos filmes. A reorganização
1017 intensifica a ocorrência de interações intermoleculares nas amostras após o
1018 processo de lavagem. Esse efeito aumenta a resistência à tração das amostras.

1019 Os resultados de análise termogravimétrica reportados neste trabalho foram
1020 comparados com o trabalho desenvolvido por Martins e colaboradores (2018) em
1021 que confeccionaram filmes de PT e QT variando a razão PT/QT nas blendas
1022 poliméricas (50/50, 67/33 e 74/26) sem adição de um agente plastificante. Os
1023 resultados de análise termogravimétrica mostraram que os filmes não lavados
1024 apresentaram eventos de degradação em torno de 235 °C, e as amostras lavadas
1025 em 253 °C (MARTINS, et al., 2018b). Comparando a temperatura dos filmes não
1026 lavados (filmes PT/QT puro e filmes FA15 e FA40), a presença de GLI diminuiu a
1027 estabilidade térmica dos filmes não lavados em 16 °C (FA15) e 21 °C (FA40),
1028 mostrando que o GLI promove redução nas temperaturas de degradação conforme
1029 o aumento de sua concentração. Para as amostras lavadas (filmes de PT/QT puro
1030 e filmes FD15 e FD40), os eventos de degradação ocorreram em temperaturas
1031 próximas (diferença de apenas 2 °C entre os filmes PT/QT puro (FD0) e FD40 e,
1032 diferença de 5 °C entre as amostras FD0 e FD15). Essa diferença entre as
1033 temperaturas de degradação pode ser devido à presença de GLI residual na matriz
1034 dos filmes lavados e consequente reorganização estrutural da matriz polimérica.

1035 A redução da estabilidade térmica promovida pela adição do GLI foi
1036 observada também no trabalho de Xu e colaboradores (2019) em que
1037 desenvolveram filmes de QT e hemicelulose, reforçados com diferentes proporções
1038 de nanofibras de celulose (5, 10, 15 e 20%) para aplicação em embalagens para
1039 alimentos. Três tipos de plastificantes (glicerol, sorbitol e xilitol) foram incorporados
1040 na matriz dos filmes na proporção 10, 20, 30 e 40%. Os resultados de TGA
1041 evidenciaram que o filme sem GLI apresentou evento de degradação em 169 °C,
1042 enquanto os filmes com GLI, apresentaram eventos de degradação em 146 °C (filme
1043 com 20% de GLI), 142 °C (filme com 30% de GLI) e 139 °C (filme com 40% de GLI).
1044 A adição do GLI ocasionou uma tendência na diminuição da estabilidade térmica do
1045 material quando comparado ao filme sem GLI (XU, et al., 2019). Um aumento de 30
1046 para 40% na concentração de GLI diminuiu a estabilidade térmica do filme em apenas

1047 3 °C. Portanto, os resultados desse estudo estão em acordo com os dados
1048 reportados por Xu e colaboradores (2019). No entanto, esse efeito depende do
1049 sistema polimérico investigado, bem como do conteúdo de GLI adicionado ao meio.

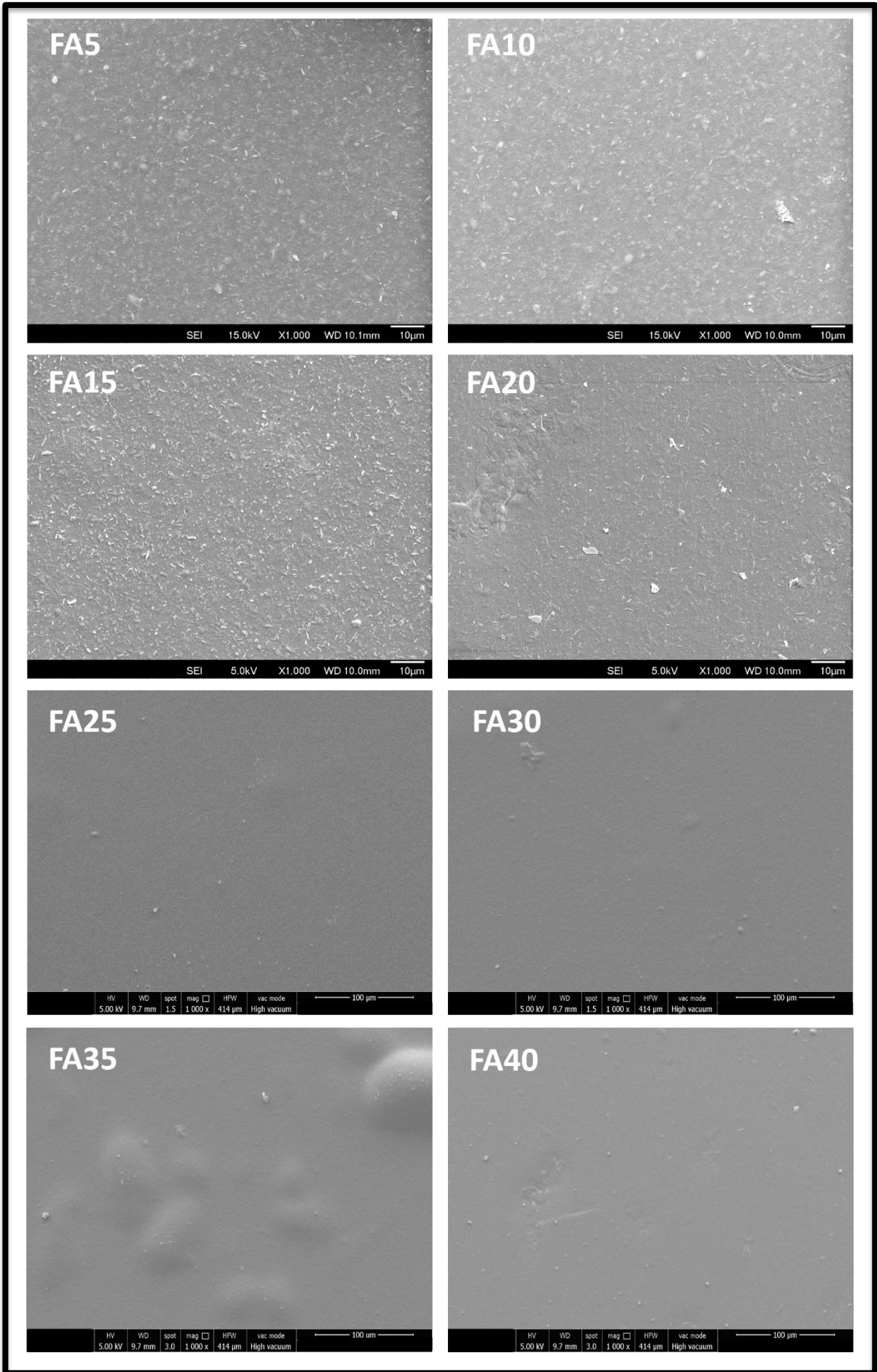
1050
1051

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

1052

1053 A Fig. 12 mostra imagens SEM das superfícies dos filmes secos (não
1054 lavados e lavados) contendo GLI. Foram obtidos filmes com superfícies
1055 homogêneas e compactas, corroborando com os resultados de análise mecânica.
1056 Esse comportamento já foi observado em filmes de PT/QT sem a presença de GLI
1057 (MARTINS, et al., 2018). Além disso, a morfologia das superfícies não indica a
1058 presença de poros e irregularidades, mesmo após a lavagem dos materiais (Fig.
1059 12). A incorporação do GLI também não alterou a morfologia das superfícies.

1060 Características similares a superfícies dos filmes deste trabalho foram
1061 reportadas por Maciel e colaboradores (2015) em que desenvolveram complexos
1062 polieletrólíticos de PT/QT para aplicar como indicadores de pH. Antocianina (0,25
1063 g) foi adicionada na suspensão de QT, para a preparação do filme. As imagens SEM
1064 mostraram que os filmes possuem superfícies lisas, homogêneas e sem poros.
1065 (MACIEL, YOSHIDA, FRANCO, 2015). Entretanto, outros autores obtiveram filmes
1066 com excesso de PT com irregularidades na superfície e sem à presença de poros,
1067 como foi reportado por Baron e colaboradores (2017) ao desenvolverem filmes de
1068 PT/QT/GLI modificando a relação de peso PT/QT na faixa de 100/0, 75/25, 50/50,
1069 25/75 e 0/100. A concentração de GLI utilizada foi de 0,2% m/m (BARON, et al.,
1070 2017). Esse presente estudo mostra o desenvolvimento de filmes com excesso de
1071 PT na matriz dos materiais. Obteve-se filmes estáveis, sem a presença de
1072 irregularidades. Estas características são importantes para utilização deste material
1073 para embalagens alimentícias, pois podem proteger o alimento durante o seu
1074 transporte e manuseio, como também auxiliar na preservação do mesmo contra
1075 água, oxigênio e outros tipos de contaminantes.



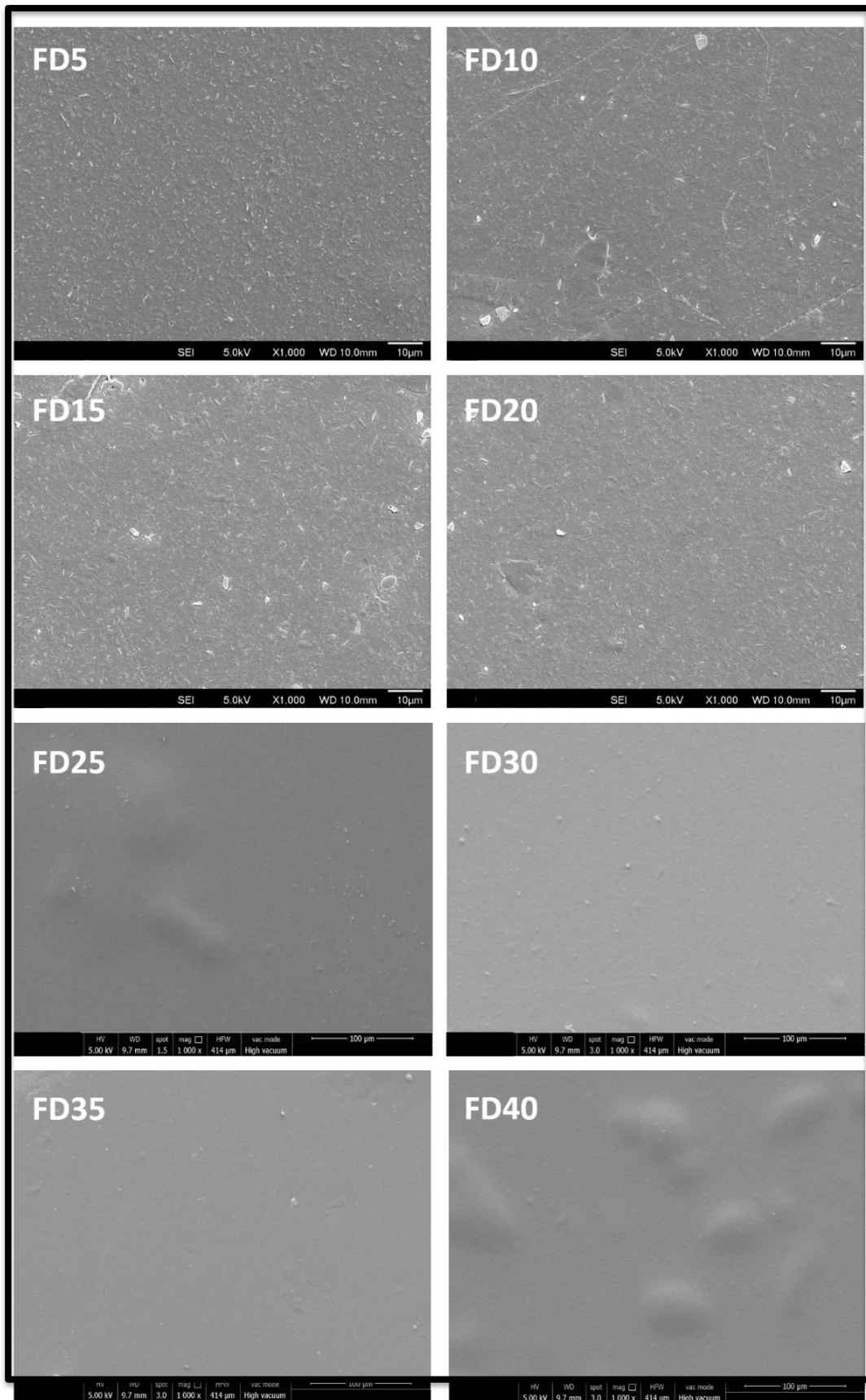


Figura 12. Imagens SEM dos filmes não lavados e lavados de PT/QT contendo diferentes concentrações de GLI (imagens obtidas na ampliação 1000 \times e escala 10 μ m).

1077
1078
1079
1080

1081 4.6 CITOTOXICIDADE DOS FILMES

1082

1083 O ensaio de citotoxicidade foi determinado por meio da liberação de LDH
1084 das células. Esta enzima solúvel é encontrada no citoplasma, sendo liberada da
1085 estrutura celular após perda da integridade da membrana. A LDH atua como um
1086 marcador da integridade física da membrana celular (MARTINS, et al., 2018a). A
1087 citotoxicidade (%) das amostras é normalizada com base nos resultados
1088 promovidos por dois controles, sendo o PS (controle negativo) e o Triton X (solução
1089 aquosa a 1,0 vol%, controle positivo). Durante o teste de citotoxicidade, algumas
1090 células morrem mesmo sem estar em contato com o agente citotóxico. Por isso, um
1091 experimento controle com PS foi realizado para verificar a liberação espontânea de
1092 LDH a partir de células que morrem sem ação de um agente citotóxico no meio. A
1093 utilização do PS como controle positivo se deve à sua reconhecida
1094 citocompatibilidade (RAMIN, et al., 2019). Como controle negativo, as células foram
1095 tratadas com Triton X por propiciar a liberação do conteúdo total de LDH. O Triton
1096 causa permeabilidade das células, promovendo a morte das mesmas (MARTINS,
1097 et al., 2018a).

1098 A citotoxicidade dos filmes FA15, FD15, FD20 e FA40 foi investigada sobre
1099 células ADSCs (células tronco do tecido adiposo humano) após 24 h, utilizando o
1100 teste LDH (Fig. 13). Estes filmes foram selecionados por apresentarem maior ($\epsilon\%$)
1101 (amostra FA40) e (σ) (amostras FD15 e FD20). No caso da amostra FD15 (após
1102 lavagem) sua citotoxicidade foi comparada com a amostra FA15. Os filmes, FA15,
1103 FD15, FD20 e FA40 promoveram citotoxicidade de 3,49, 3,03, 0,38 e 5,50,
1104 respectivamente ($p > 0,95$).

1105

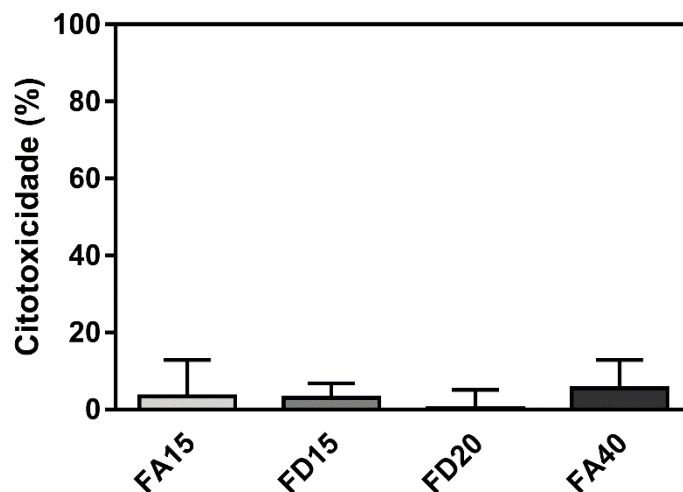


Figura 13. Resultados de citotoxicidade (%) sobre células tronco do tecido adiposo (ADSCs) após 24 h de incubação determinados pelo teste LDH.

1106

1107

1108

1109

1110

1111

1112

1113

1114

1115

1116

1117

1118

1119

1120

1121

1122

1123

1124

1125

1126

1127

1128

1129

1130

1131

Todas as amostras foram consideradas citocompatíveis para as células ADSCs. A baixa citotoxicidade das amostras pode ser justificada devido à similaridade na estrutura, que os filmes a base de polissacarídeos apresentam em relação à matriz extracelular (ECM), que é composta por glicosaminoglicanos, proteoglicanos e proteínas. A ECM media as interações entre as células e o material, atuando em eventos importantes, tais como na fixação de células na superfície de materiais, na proliferação, orientação e diferenciação celular (MARTINS, et al., 2018a).

Destacamos que mesmo os filmes não lavados apresentaram citocompatibilidade. Esse efeito se deve à baixa concentração residual de HCl nos filmes. Esse fato foi confirmado por meio da análise XPS. Outro fator que também deve ter contribuído para esse resultado, é o fato do teste de citotoxicidade ter sido realizado em um meio de cultura líquido, cujo pH é próximo de 7,0. O meio pode ajudar na neutralização do HCl remanescente nas matrizes dos filmes. Via método LDH, mostramos recentemente que filmes puros de PT/QT possuem citocompatibilidade sobre células ADSC (MARTINS, et al., 2018a).

Outros pesquisadores avaliaram a citotoxicidade de filmes por meio do teste LDH. Pandele e colaboradores (2014) desenvolveram filmes a base de óxido de grafeno/QT/álcool polivinílico. Para o preparo dos filmes foi utilizada uma razão QT/PVA 50/50 m/m. Diferentes conteúdos de óxido de grafeno foram incorporados nas amostras (0,5, 1,0, 2,5 e 6,0%). O potencial citotóxico dos filmes foi avaliado sobre células de osteoblastos por meio do kit LDH. Os meios de cultura foram

1132 colhidos em 2, 4 e 7 dias após a semeadura. Os resultados demonstraram que
1133 filmes com 6,0% de óxido de grafeno apresentaram maior citocompatibilidade em
1134 comparação com as outras amostras nos dias respectivos de análise (PANDELE,
1135 et al., 2014). Os resultados de citotoxicidade dos filmes FA e FD demonstraram que
1136 esses materiais podem ser utilizados para embalagens alimentícias, porque não
1137 possuem potencial citotóxico.

1138
1139

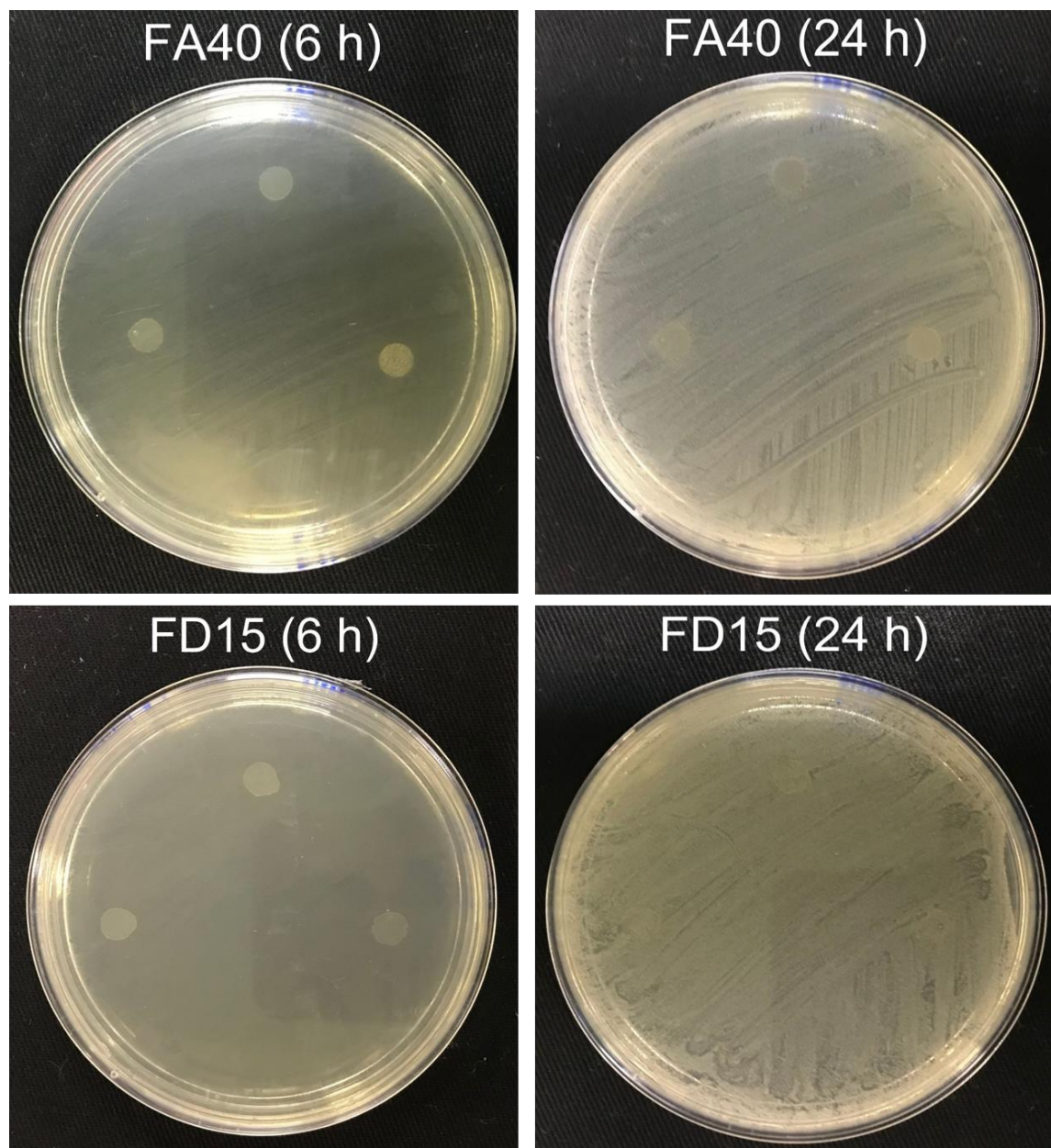
4.7 ENSAIO ANTIMICROBIANO VIA MÉTODO DISCO-DIFUSÃO

1140

1141 Com base nos resultados de propriedades mecânicas (amostra FA40
1142 apresentou maior ε (19%), enquanto o filme FD15 mostrou maior σ (55 MPa)) e
1143 citocompatibilidade, optamos por escolher o filme FD15 e FA40 para estudos
1144 posteriores. Os mesmos foram submetidos à testes antimicrobianos contra *E. coli*.
1145 A escolha desta bactéria patogênica está vinculada à sua ação na contaminação de
1146 produtos alimentícios (SIRIPATRAWAN, VITCHAYAKITTI, 2016) e intoxicação
1147 alimentar (MOSTAFA, et al., 2018). É bem conhecido que a QT apresenta atividade
1148 antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Esta
1149 característica está interligada ao seu mecanismo de ação, envolvendo interações
1150 eletrostáticas com a parede celular bacteriana e constituintes citoplasmáticos
1151 (DUAN, et al., 2019).

1152 O efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias *E. coli* (Gram-negativa)
1153 foi investigado após 6 e 24 h de contato (Fig. 14). Os resultados mostram que não
1154 houve a formação de halos de inibição. Desta forma, não houve a difusão de íons
1155 H_3O^+ (remanescente do HCl) e de QT a partir dos filmes. Por outro lado, destaca-
1156 se que não houve crescimento de *E. coli* sobre a amostra FA40, enquanto sobre a
1157 FD15, a *E. coli* recobriu totalmente a superfície do filme. Esse resultado indica que
1158 a superfície do filme FA40 pode promover efeito anti-adesivo sobre a *E. coli*. Esse
1159 efeito ainda será melhor investigado.

1160



1161

1162

1163

1164

1165

1166

1167

1168

1169

1170

1171

1172

Figura 14. Imagens digitais das placas de cultura de *E. coli* contendo discos (6,0 mm) dos filmes FA40 e FD15, após 6 e 24 h de incubação a 37 °C (pH 7,4).

A variação de um componente com característica antimicrobiana, como a QT, pode promover melhores resultados antimicrobianos, como demonstrada por Soni e colaboradores (2018) em que avaliaram as atividades antimicrobianas via método disco-difusão em bactérias *Salmonella entérica*, *E. coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes*, por meio de filmes biocompostos de QT/TEMPO (radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxila) variando suas proporções, respectivamente (100/0, 85/15 e 75/25). Estes filmes foram incorporados com sorbitol (25%) e nanofibras de celulose (0, 15 e 25%). Os resultados antimicrobianos comprovaram que a

1173 proporção QT (100/0) apresentou maior atividade antimicrobiana contra todas as
1174 linhagens bacterianas, devido a maior concentração de grupos -NH_3^+ presente na
1175 amostra em pHs menores que 6,3 (SONI, et al., 2018).

1176
1177

4.8 ENSAIO DE ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE BACTÉRIAS

1178

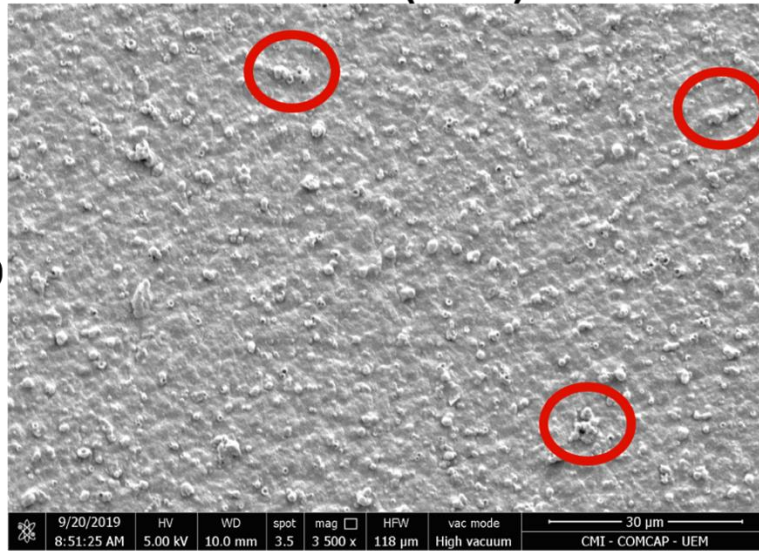
1179 Além do ensaio antimicrobiano via método disco-difusão, os filmes FA15 e
1180 FD40 foram submetidos ao ensaio antimicrobiano de adesão e proliferação.
1181 Imagens SEM mostram (após 24 h de contato) que não ocorre adesão de células
1182 *E. coli* com morfologia regular na superfície do filme FA40 após este tempo (Fig.
1183 15). Por outro lado, na superfície do filme FD15, células *E. coli* com estrutura regular
1184 encontram-se aderidas à superfície. No entanto, as células *E. coli* estão agregadas
1185 em algumas regiões da superfície. Esse resultado sugere que o filme FA40
1186 apresenta atividade antiadesiva sobre a *E. coli*, enquanto o filme FD15 não
1187 apresenta tal propriedade. Esse efeito corrobora com o resultado apresentado na
1188 Seção anterior. O PS foi escolhido como controle negativo por não possuir atividade
1189 antimicrobiana e antiadesiva, sendo também utilizado como embalagens
1190 alimentícias (MARTINS, et al., 2020). Em comparação ao PS, os filmes FA40 e
1191 FD15 não apresentam atividade antiadesiva e bactericida, pois células *E. Coli* com
1192 morfologia regular recobrem totalmente a superfície do PS após 24 h (Fig. 15).

1193

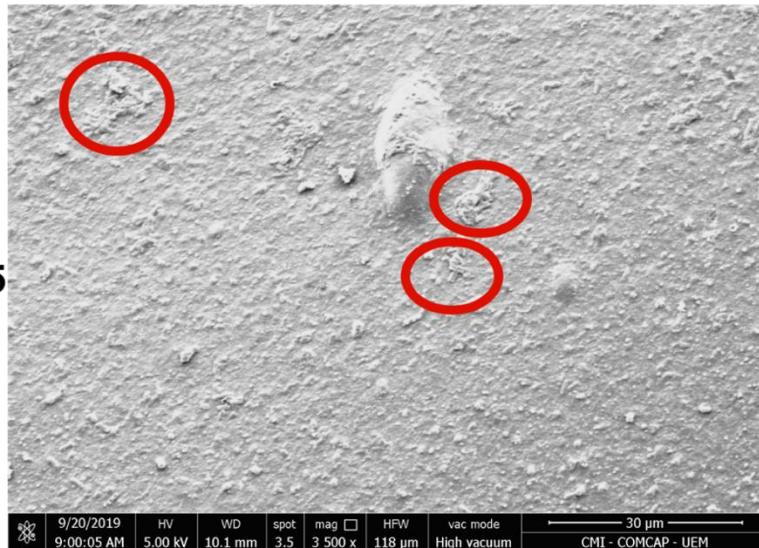
1194

***E. coli* (24 h)**

FA40



FD15



Controle (PS)

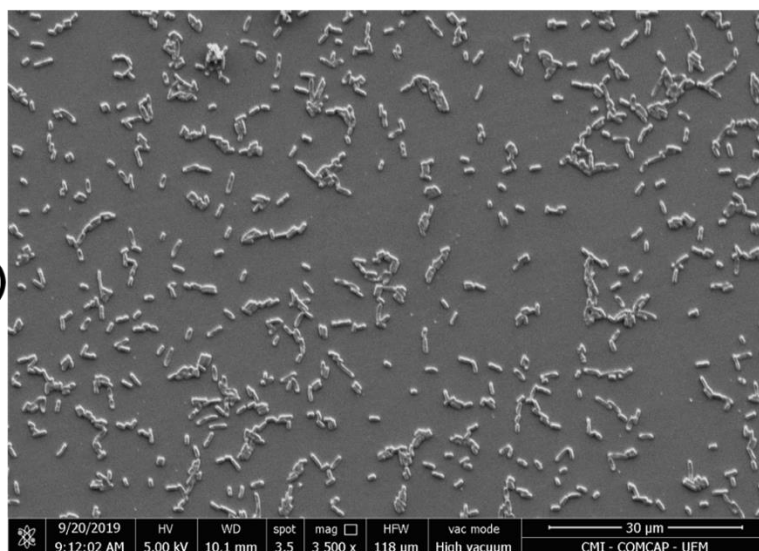
1195
1196
1197

Figura 15. Imagens SEM do filme não lavado (FA40) e lavado (FD15) incubados com *E. coli* após 24 h.

1198 A capacidade anti-adesiva do filme FA40 decorre da molhabilidade da
1199 superfície do filme (ângulo de contato de 50° após 10 min) em relação aos filmes
1200 FD15 (ângulo de contato de 89° após 10 min de contato) e PS (ângulo de contato
1201 de 82° (MARTINS, et al., 2020). As paredes celulares de bactérias Gram-negativas
1202 são revestidas por uma fina camada de glicoproteínas e recobertas por uma
1203 espessa camada composta principalmente por lipoproteínas e lipídios. Desta
1204 maneira, filmes com superfície hidrofóbica propiciam interações favoráveis com as
1205 paredes celulares das bactérias aumentando a adesão microbiana. Neste contexto,
1206 a superfície do filme FA40 de caráter majoritariamente hidrofílico, impede a fixação
1207 e conseqüentemente o crescimento de bactérias (MARTINS, et al., 2020).

1208 A ação bactericida dos filmes está interligada a presença do grupo catiônico
1209 $-NH_3^+$ da QT. O grupo amino protonado pode interagir eletrostaticamente com o
1210 fosfolipídio dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), principal componente da membrana
1211 celular de bactérias Gram-negativas. Essa interação proporciona aumento da
1212 permeabilidade da membrana celular, ocasionando evasão de componentes
1213 intracelulares, como ácido nucleico e glicose, impedindo o transporte destes
1214 nutrientes para as células microbianas. As etapas citadas acima podem ocasionar
1215 a morte da bactéria (FACCHI, FACCHI, MARTINS, 2016; MARTINS, et al., 2020).

1216 Martins e colaboradores (2020) desenvolveram filmes finos de PT/QT (PT-
1217 QT) e *iota*-carragena/QT (IC-QT) via método layer-by-layer. Os testes de adesão e
1218 proliferação de bactérias *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa) e
1219 *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) indicaram que os filmes finos apresentam
1220 propriedades anti-adesivas e bactericida sobre ambas as linhagens de bactérias
1221 após 24 h de incubação. Os resultados desta análise demonstraram que o número
1222 de bactérias *P. aeruginosa* aderidas a superfície do material foi de apenas 11
1223 bactérias para cada cm^{-2} de superfície do filme fino IC-QT e 47 bactérias para cada
1224 cm^{-2} de superfície do filme fino PT-QT (MARTINS, et al., 2020). Materiais à base de
1225 PT/QT podem proporcionar baixa adesão microbiana e atividade bactericida,
1226 estando em acordo com os resultados obtidos neste trabalho. No entanto, essas
1227 propriedades são dependentes da metodologia usada no preparo dos materiais. Os
1228 resultados demonstraram que os filmes apresentaram atividade antimicrobiana
1229 contra a bactéria *E. coli*. Desta forma, estes materiais podem promover proteção

1230 para os alimentos contra microrganismos. Provavelmente, o potencial
1231 antimicrobiano dos filmes deve-se a presença da QT na matriz polimérica.

1232
1233

4.9 TAXAS DE PERMEABILIDADE A VAPOR DE ÁGUA E OXIGÊNIO

1234

1235 As propriedades de barreira de um filme polimérico são fundamentais para
1236 a estimativa da vida útil de um alimento em prateleira. A permeabilidade ao vapor
1237 de água e ao oxigênio são duas das principais propriedades investigadas para
1238 aplicação de filmes como embalagens de alimentos. Tanto o vapor de água quanto
1239 o oxigênio podem ser transferidos do ambiente interno ou externo por intermédio da
1240 embalagem, ocasionando mudanças na qualidade e propriedades dos alimentos.
1241 Esse efeito está diretamente relacionado ao prazo de validade do alimento
1242 embalado (CAZÓN, et al., 2017).

1243 Os resultados das medidas da TPVA E TPO₂ realizados com os filmes FA40
1244 e FD15 estão apresentados na Tabela 3.

1245
1246
1247

Tabela 3: Resultados das taxas de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e gás oxigênio (TPO₂) determinadas sobre os filmes FA40 e FD15.

| Amostra | TPVA (g/m ² dia) | TPO ₂ (cm ³ /m ² dia) |
|---------|-----------------------------|--|
| FA40 | 0,004 | 1,8 |
| FD15 | 0,072 | 0,7 |

1248

1249 A presença de GLI (40%) na matriz polimérica ocasionou menor
1250 permeabilidade ao vapor de água e maior permeabilidade do gás oxigênio. Esse
1251 resultado ocorre devido ao caráter hidrofílico do GLI que dificulta a difusão das
1252 moléculas de água (SARANTÓPOULOS, et al., 2002) através da matriz do filme
1253 FA40. Por outro lado, devido a maior hidrofobicidade do filme FD15 que deve
1254 interagir melhor com moléculas apolares do gás oxigênio. O filme FA40 apresenta
1255 maior potencial para absorver água, uma vez que esse material se trata de um
1256 hidrogel majoritariamente hidrofílico. Medidas de ângulo de contato confirmaram a
1257 maior hidrofiliidade do filme FA40 (50° após 10 min de contato) em relação ao filme
1258 FD15 (89° após 10 min de contato). Esse resultado explica a maior capacidade de
1259 barreira ao vapor de água. O filme FD15 apresenta característica hidrofóbica.
1260 Assim, ele possui melhor potencial de barreira sobre o gás oxigênio. No entanto,

1261 podemos afirmar que a taxa de permeabilidade TPVA e TPO₂ foram baixas para
1262 ambas as amostras.

1263 O maior conteúdo de glicerol (40%) aumenta a TPO₂, indicando que
1264 concentrações elevadas de plastificante podem promover aumento da
1265 permeabilidade de O₂. Esse efeito pode estar relacionado à ação plastificante do
1266 GLI que aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas. Isso permite a difusão das
1267 moléculas de oxigênio através do filme (LECETA, GUERRERO, CABA, 2013). O
1268 maior resultado de TPO₂ do filme FA40 deve estar associado ao seu maior
1269 alongamento até a ruptura ($\varepsilon = 19\%$). Em relação ao filme FD15, sua baixa TPO₂
1270 em comparação ao filme FA40 deve estar associada à reorganização estrutural da
1271 matriz do filme após a lavagem. De acordo com o XPS, a lavagem remove o GLI
1272 superficial do filme FD15, tornando o mesmo mais resistente (55 MPa). Esse efeito
1273 aumenta a hidrofobicidade do filme, promovendo uma melhor barreira as moléculas
1274 do gás O₂.

1275 Os filmes FA40 e FD15 apresentaram excelentes resultados de barreira
1276 contra o vapor de água e gás oxigênio. Leceta e colaboradores (2013)
1277 desenvolveram filmes puros de QT incorporados com 15 e 30% de GLI. As análises
1278 de TPO₂ foram realizadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ a $50 \pm 3\%$ de umidade relativa. Os resultados
1279 de TPO₂ para os filmes de QT de baixa massa molar foram de $6,65 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2}$
1280 $\text{day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ (filme puro), $20,04 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ (filme com 15% de GLI) e
1281 $37,38 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ (filme com 30% de GLI). Para os filmes de QT de alta
1282 massa molar, os valores de TPO₂ foram de $7,70 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ (filme puro),
1283 $21,93 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ (filme com 15% de GLI) e $38,17 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1}$
1284 kPa^{-1} (filme com 30% de GLI). Estes resultados demonstraram o aumento da
1285 permeabilidade dos filmes com o aumento da proporção de GLI que vieram de
1286 encontro com os resultados apresentados nesse estudo (LECETA, GUERRERO,
1287 CABA, 2013).

1288
1289

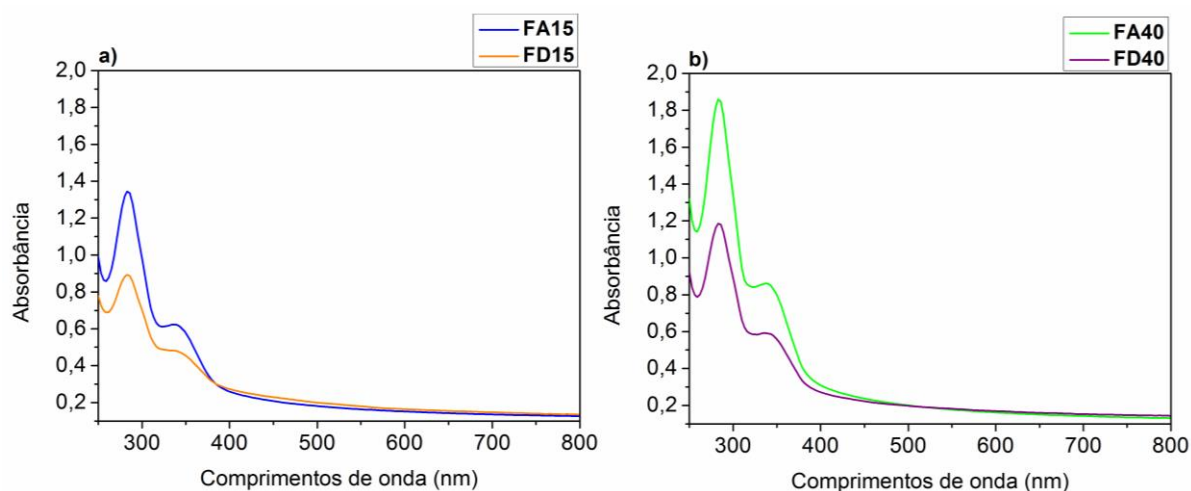
4.10 PROPRIEDADE DE BARREIRA À LUZ

1290

1291 Propriedades de barreira à luz (radiação ultravioleta (UV)) consiste em um
1292 parâmetro importante, pois esta é a responsável pela oxidação dos lipídios. A

1293 oxidação lipídica afeta as propriedades organolépticas dos alimentos, causando o
 1294 surgimento de sabores e odores indesejáveis, reduzindo o tempo de prateleira dos
 1295 alimentos embalados. Filmes com boas propriedades de barreira à luz UV, na região
 1296 de (200 – 280 nm) podem auxiliar no retardamento da oxidação lipídica, fornecendo
 1297 maior proteção ao alimento (CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018; CAZÓN,
 1298 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019).

1299 A Fig. 16 ilustra os espectros de absorbância na faixa de radiação UV-Vis
 1300 para as amostras FA40 e FD15.



1301

1302

Figura 16. Espectros UV-Vis dos filmes com 15% (a) e 40% (b) de GLI.

1303

1304 A propriedade de barreira à luz UV foi melhor para as amostras FA40 e
 1305 FA15 em comparação as amostras FD40 e FD15. Isso se deve à remoção do
 1306 excesso de GLI na amostra FD. Durante o processo de lavagem, o excesso de GLI
 1307 é removido da matriz polimérica. Esse efeito está associado a uma diminuição da
 1308 absorbância na região UV. Além disto, as espessuras dos filmes FD (FD15 = 0,028
 1309 mm, FD40 = 0,029 mm) são menores em comparação aos filmes FA (FA15 = 0,038
 1310 mm e FA40 = 0,045 mm). A amostra FA40 apresentou maior valor de absorbância
 1311 na região UV (Fig. 16). O aumento da proporção de GLI (15 para 40%) promove
 1312 maior efeito protetor contra a radiação UV. O aumento de GLI para 40% promove
 1313 uma maior espessura no filme FA40. Esse efeito somado ao aumento da quantidade
 1314 de GLI promove maior capacidade de absorção da luz UV (Fig. 16).

1315

1316 Além da propriedade de barreira à luz, a transparência de um material é um
 fator importante na confecção de embalagens alimentícias. Este efeito proporciona

1317 um impacto direto na aceitabilidade do consumidor. Embalagens transparentes
 1318 permitem ao consumidor analisar o produto com maior nitidez, avaliando sua
 1319 qualidade visualmente (CÁZON, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018).

1320 A propriedade de barreira à luz dos filmes, pode ser ratificada pelos valores
 1321 de transparência apresentados na Tabela 4.

1322
 1323

Tabela 4: Valores de transparência dos filmes FA15, FA40, FD15 e FD40.

| Amostra | Espessura média (mm) | Transparência (%.mm⁻¹) |
|----------------|-----------------------------|--|
| FA15 | 0,038± 0,009 | 50,35 |
| FA40 | 0,055 ± 0,014 | 34,80 |
| FD15 | 0,028 ± 0,025 | 68,06 |
| FD40 | 0,029 ± 0,008 | 63,64 |

1324

1325 Como esperado, os valores de transparência confirmaram os resultados
 1326 obtidos no teste de barreira à luz. A amostra FA40 apresentou o menor valor (%) de
 1327 transparência entre todas as amostras, indicando que este filme interage melhor
 1328 com a luz. Este efeito deve estar relacionado ao aumento da espessura do filme. A
 1329 espessura de um filme é um dos fatores responsáveis que deve ser ajustado afim
 1330 de modular a transparência de materiais (ELSABEE, ABDON, 2013). Uma menor
 1331 transparência está intimamente relacionada com elevadas espessuras (CÁZON,
 1332 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018). O filme FA40 (34,80%.mm⁻¹) apresentou valor de
 1333 transparência similar em relação ao filme de polipropileno (38,2%.mm⁻¹) e acima de
 1334 filme de polietileno de baixa densidade (15 – 20%) (LEE, SON, HONG, 2008).

1335 Altos valores de absorção de luz em filmes contendo GLI também foram
 1336 reportado por Cazón e colaboradores (2019). Eles desenvolveram filmes a partir de
 1337 celulose, glicerol e álcool polivinílico. Filmes contendo 5,0% de GLI apresentaram
 1338 maior capacidade para absorver luz UV, promovendo um valor de absorbância
 1339 máximo de 2,3. Os valores de transparência dos materiais foram de 38,56% (filme
 1340 obtidos de uma mistura com composição 4,0% m/m de celulose, 5,0% m/m de GLI
 1341 e 5,0% m/m de álcool polivinílico), 89,38% (filme obtido de uma mistura na

1342 composição 3,0% m/m de celulose, 5,0% m/m de GLI e 5,0% m/m de álcool
1343 polivinílico) e 53,23% (filme obtido de uma mistura 3,0% m/m de celulose e 5,0%
1344 m/m de álcool polivinílico). Os autores concluíram que a presença do GLI
1345 proporcionou efeito protetor contra a radiação UV (CAZÓN, VELAZQUEZ,
1346 VÁZQUEZ, 2019).

1347 Em comparação a outros materiais desenvolvidos para embalagens de
1348 alimentos, os filmes deste trabalho apresentaram excelentes propriedades de
1349 barreira à luz. Por exemplo, Tan e colaboradores (2014) desenvolveram filmes a
1350 base de QT incorporados com diferentes proporções (0, 0,5, 1,0 e 1,5% m/m) de
1351 extrato de sementes de toranja para utilização como embalagens de alimentos para
1352 proteção de pães. Os filmes foram desenvolvidos pelo método casting. As
1353 propriedades de barreira à luz e transparência dos filmes foram analisadas na faixa
1354 de 220 a 880 nm. Os resultados de propriedade de barreira a luz evidenciaram altos
1355 valores de transmitância (faixa de 58,84% a 93,14%) para os filmes com maior
1356 proporção de extrato de sementes de toranja (1,5%). Esses resultados foram
1357 comparados com os resultados de barreira à luz promovidos por filmes sintéticos,
1358 tais como o polietileno de baixa densidade (86,9%), polipropileno orientado (89,1%),
1359 poliéster (83,5%) e polivinil cloreto de vinildeno (90,0%). Os autores concluíram que
1360 os filmes podem ser utilizados em embalagens alimentícias para preservar pães.
1361 Por outro lado, é importante ressaltar que altos valores de transmitância (%), estão
1362 relacionados a maior passagem de luz pelo material. Este efeito, pode ocasionar a
1363 oxidação lipídica, diminuindo o tempo de vida útil do alimento (TAN, et al., 2014).

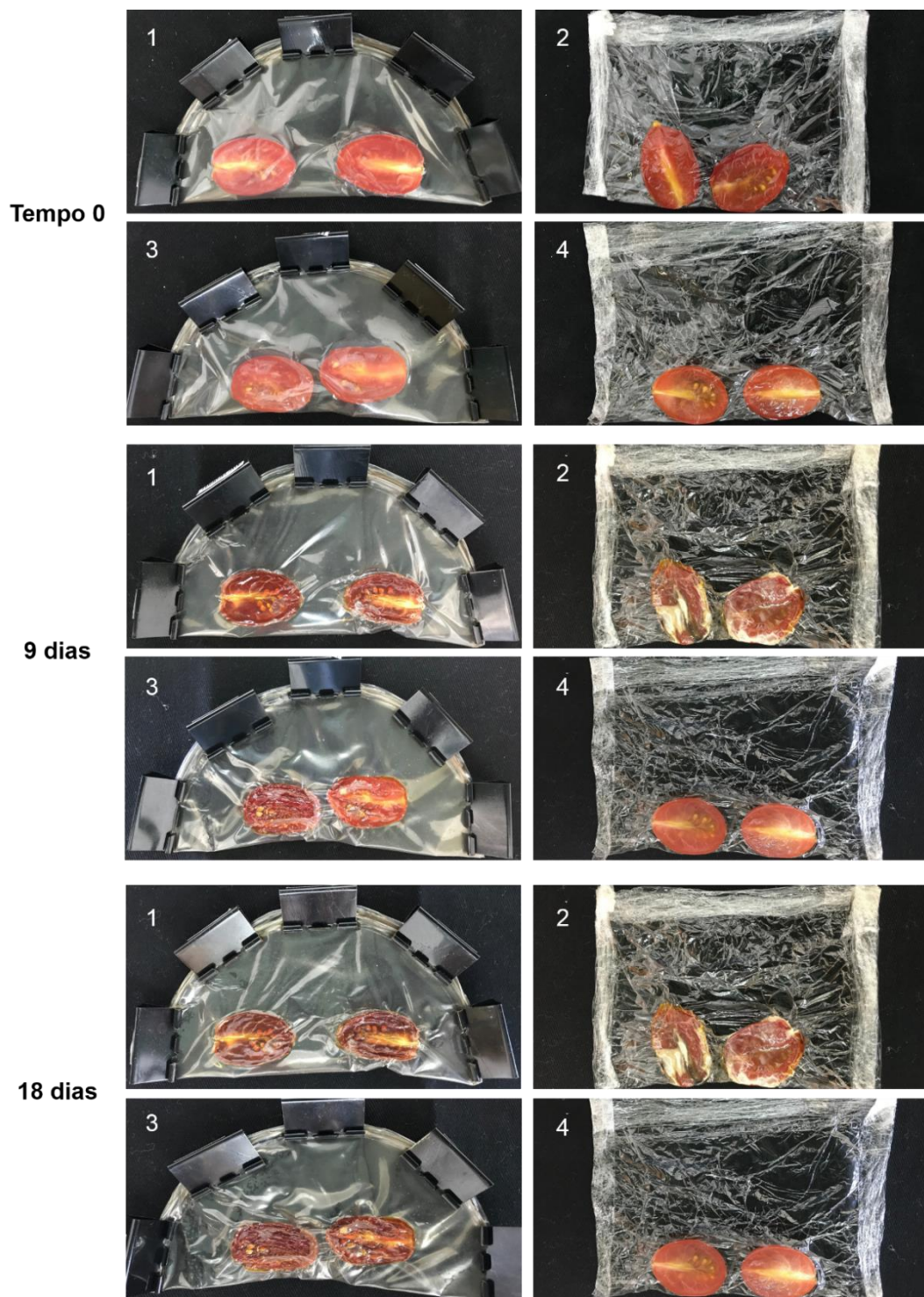
1364 Os resultados de propriedades de barreira à luz UV desse estudo foram
1365 promissores, com destaque para as amostras FA. Os filmes proporcionaram a
1366 formação de uma barreira protetora e os resultados de transparência foram
1367 satisfatórios. Essas características podem proporcionar o desenvolvimento de
1368 embalagens alimentícias. As mesmas devem promover visualização do alimento
1369 embalado e bem como preservar as propriedades organolépticas do alimento por
1370 um maior período.

1371
1372

4.11 EMBALAGEM DE ALIMENTOS

1373

1374 O filme FA40 foi utilizado como embalagem de alimentos, uma vez que
1375 apresenta propriedades mecânicas adequadas, propriedades antimicrobianas,
1376 citocompatibilidade e propriedades de barreira contra água, oxigênio e luz. O
1377 potencial para embalagens alimentícias dos filmes FA40 e PVC foram avaliados
1378 utilizando tomates-cerejas. As alterações estruturais dos tomates-cerejas
1379 embalados com quatro conjuntos de embalagens: (1) filme FA40 acondicionado fora
1380 da geladeira (temperatura ambiente); (2) filme PVC acondicionado fora da geladeira
1381 (temperatura ambiente); (3) filme FA40 armazenado dentro da geladeira; (4) filme
1382 PVC armazenado dentro da geladeira. O estudo foi realizado durante 18 dias de
1383 armazenamento. Imagens digitais são apresentadas na Fig. 17.
1384



1385
1386
1387
1388
1389

Figura 17. Imagens digitais de tomates-cerejas embalados com os filmes FA40 e PVC depois de 0, 9 e 18 dias. Amostra 1 = filme FA40 acondicionado fora da geladeira (temperatura ambiente); Amostra 2 = filme PVC acondicionado fora da geladeira (temperatura ambiente).

1390 No tempo 0, todos os tomates apresentaram coloração avermelhada e
1391 textura lisa. No 1º dia, as primeiras modificações estruturais nos tomates-cereja
1392 foram visualizadas na embalagem (2), pois a região da columela apresentou-se

1393 mais escurecida. Esta mudança de coloração, pode indicar a baixa eficiência do
1394 PVC em armazenar produtos fora da geladeira. As outras três embalagens
1395 mantiveram os aspectos estruturais dos tomates-cerejas.

1396 No 9º dia, a aparência física dos tomates-cerejas das embalagens (1), (2) e
1397 (3) apresentou diferenças estruturais evidentes. Os tomates-cerejas das
1398 embalagens (1) e (3) estavam levemente secos, com superfície enrugada, devido à
1399 perda de água para a matriz do filme (Fig. 17) Entretanto, sua coloração
1400 avermelhada e a ausência de microrganismos causadores de deterioração,
1401 confirmaram que o filme FA40 preservou o fruto. Na embalagem (2), observou-se
1402 regiões esbranquiçadas no feixe vascular e columela dos tomates-cereja,
1403 evidenciando o apodrecimento do alimento. A embalagem (4) não foi observada
1404 mudanças nas características estruturais dos tomates-cerejas. O armazenamento
1405 na geladeira prolonga o tempo de vida útil do fruto (Fig. 17).

1406 Após 18 dias de análise, os tomates-cerejas das embalagens (1) e (3)
1407 mantiveram sua coloração e preservação de suas propriedades. A absorção de
1408 água pelo filme, promoveu aos mesmos textura enrugada, deixando-os
1409 desidratados. Entretanto, neste período, não foi observado a presença
1410 microrganismos sobre o fruto. Nos tomates-cerejas das embalagens (2) e (4)
1411 observou-se a proliferação de microrganismos deterioradores, sendo mais evidente
1412 na embalagem (2). Esse efeito promoveu o apodrecimento do alimento. Na
1413 embalagem (4) a presença de microrganismos aconteceu após 18 dias.

1414 Outros filmes a base de polissacarídeos também foram utilizados em testes
1415 como embalagens alimentícias para proteção de tomates-cerejas. Kaewklin e
1416 colaboradores (2018) desenvolveram filmes de nanocompósitos de QT
1417 incorporados com nanopartículas de dióxido de titânio (21 nm) e também filmes
1418 puros de QT para embalagens de tomates. Para o preparo dos filmes, a QT foi
1419 dissolvida em ácido acético 1% (vol/vol) e GLI (30% m/m) foi incorporado a solução
1420 de QT (2,0% m/v). A aplicação do teste em tomates decorreu em três tipos de
1421 embalagens: (1) filme nanocompósito de QT/dióxido de titânio, (2) filme de QT puro
1422 e (3) embalagem de polietileno de baixa densidade (controle). Todas as amostras
1423 foram armazenadas em uma câmara de temperatura e umidade constante a 20 °C
1424 e 85% de umidade relativa (UR) e irradiados com luz UV. A qualidade dos tomates
1425 foi avaliada duas vezes por semana. Os resultados demonstraram que filmes

1426 contendo dióxido de titânio apresentaram os melhores resultados, devido à sua
1427 propriedade de fotodegradação (KAEWKLIN, et al., 2018).

1428 Durante o período analisado, a eficiência das embalagens confeccionadas
1429 pelos filmes de PT/QT/GLI foi excelente em comparação as embalagens de PVC.
1430 As características observadas nesta análise estão de acordo com os resultados de
1431 teste de adesão inicial de bactérias e a atividade antimicrobiana. Acredita-se que os
1432 filme FA40 seja promissor para utilização como embalagens para alimentos. Esse
1433 filme proporciona proteção contra microrganismos deterioradores, promovendo a
1434 preservação das propriedades organolépticas. Certamente, o filme FA40 pode
1435 aumentar o tempo de vida útil de alimentos em prateleira quando comparado à
1436 filmes convencionais. Destacamos que não há necessidade de realizar a etapa de
1437 lavagem do filme FA40, otimizando o tempo de produção do mesmo. Além disso, a
1438 eficácia do filme FA40 como embalagem alimentícia comprova a utilização deste
1439 material sem .

1440
1441

5 CONCLUSÃO

1442

1443 O preparo de filmes de PT/QT incorporados com diferentes conteúdos de
1444 glicerol foram obtidos neste estudo. A modificação do teor inicial de glicerol na
1445 blenda de PT/QT proporcionou a formação de filmes resistentes e flexíveis. A
1446 incorporação do glicerol favoreceu o aumento efetivo da resistência a tração das
1447 amostras lavadas. Não há relatos na literatura sobre filmes com excesso de PT na
1448 matriz polimérica com resultados promissores de propriedades mecânicas como
1449 obtidos neste trabalho. Além disso, os filmes desenvolvidos são isentos de agentes
1450 reticulantes, agentes tóxicos e materiais sintéticos, consistindo em um material de
1451 baixa citotoxicidade. Foram obtidos filmes não lavados e lavados com superfície lisa
1452 e homogênea. Os espectros de XPS demonstraram provavelmente a presença de
1453 sinais característicos da PT e QT e, também do GLI. Medidas de ângulo de contato
1454 confirmaram alteração significativa da molhabilidade da superfície dos filmes. As
1455 amostras lavadas são mais hidrofóbicas em relação as amostras não lavadas. Esse
1456 efeito se deve a presença de GLI na superfície dos filmes não lavados. A lavagem
1457 dos filmes aumenta a efetividade de interação entre os componentes da matriz. Isso
1458 explica porque os filmes apresentam maior resistência à tração depois de lavados.

1459 Os filmes FA não apresentaram citotoxicidade. Esta característica contribuiu para
1460 que o filme FA40 apresente atividade antimicrobiana e antiadesiva contra bactérias
1461 *E. Coli*. Os testes de propriedade de barreira evidenciaram a proteção dos filmes
1462 contra água, oxigênio e luz. Sendo assim, o filme FA40 pode manter as
1463 propriedades organolépticas dos alimentos por um maior tempo de prateleira.
1464 Aplicando este material como embalagem em tomates-cerejas, o filme FA40
1465 manteve a integridade física e conservou o fruto. A eficácia do filme FA40 na
1466 proteção de tomates-cerejas, comprovou que os filmes não necessitam ser
1467 submetidos ao processo de lavagem. A retirada desta etapa proporciona a
1468 otimização da produção dos materiais, evitando a utilização de água durante o
1469 processo. O conjunto de resultados deste estudo confirma o potencial do filme FA40
1470 em atuar como embalagem para fins alimentícios.

1471 Futuramente, a utilização deste material como embalagem para alimentos
1472 poderá auxiliar na despoluição do meio ambiente substituindo embalagens
1473 sintéticas, reduzindo o acúmulo de lixo e a conservação do meio ambiente.

1474

1475

1476

REFERÊNCIAS

1477

1478 ABDULLAH, Z. W.; DONG, Y. Biodegradable and Water Resistant
1479 Poly(vinyl) Alcohol (PVA)/Starch (ST)/Glycerol (GL)/Hallosite Nanotube (HNT)
1480 Nanocomposite Films for Sustainable Food Packaging. **Frontiers in Materials**, v. 6,
1481 p. 1-17, 2019.

1482

1483 ADILAH, Z. A. M.; JAMILAH, B.; HANANI, Z. A. N. Functional and
1484 antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract
1485 for active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p.207-218, 2018.

1486

1487 AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A
1488 review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, p. 105-121, 2015.

1489

1490 ANSORENA, M. R.; MARCOVICH, N. E.; PEREDA, M. Food Biopackaging
1491 Based on Chitosan. **Research Gate**, p. 1-27, 2017.

- 1492
- 1493 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). In Annual
1494 Book of ASTM Standards; ASTM: Philadelphia, PA, 2002.
- 1495
- 1496 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM
1497 F1249-90, **Standard Test Method for Water Vapor Transmission Rate Through**
1498 **Plastic Film and Sheeting Using a Modulated Infrared Sensor**. West
1499 Conshohocken, 2001.
- 1500
- 1501 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM
1502 D3985-02, **Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through**
1503 **Plastic Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor**. West Conshohocken,
1504 2001.
- 1505
- 1506 ANVISA. Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária 91/2001.
1507 **Diário Oficial da União**, p. 27, 2001.
- 1508
- 1509 AZIZ, M. S. A.; SALAMA, H. E.; SABAA, M. W. Biobased alginate/castor oil
1510 edible films for active food packaging. **LWT – Food Science and Technology**, v.
1511 96, p. 455-460, 2018.
- 1512
- 1513 BANDYOPADHYAY, S.; SAHA, N.; BRODNJAK, U. V.; SÁHA, P. Bacterial
1514 cellulose and guar gum based modified PVP–CMC hydrogel films: Characterized for
1515 packaging fresh berries. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 1-9, 2019.
- 1516
- 1517 BARON, R. D.; PÉREZ, L. L.; SALCEDO, J. M.; CÓRDOBA, L. P.; SOBRAL,
1518 P. J. A. Production and characterization of films based on blends of chitosan from
1519 blue crab (*Callinectes sapidus*) waste and pectin from Orange (*Citrus sinensis*
1520 *Osbeck*) peel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 676-
1521 683, 2017.
- 1522
- 1523 BATISTA, R. A.; ESPITIA, P. J. P.; QUINTANS, J. S. S.; FREITAS, M. M.;
1524 CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; CARDOSO, J. C. Hydrogel as an alternative

1525 structure for food packaging systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 205, p. 106-116,
1526 2019.

1527

1528 BIERHALZ, A. C. K.; SILVA, M. A.; KIECKBUSCH, T. G. Natamycin release
1529 from alginate/pectin films for food packaging applications. **Journal of Food**
1530 **Engineering**, v. 110, p. 18-25, 2012.

1531

1532 BRIASSOULIS, D.; GIANNOULIS, A. Evaluation of the functionality of bio-
1533 based food packaging films. **Polymer Testing**, v. 69, p.39-51, 2018.

1534

1535 BUENO, P. V. A.; SOUZA, P. R.; FOLLMANN, H. D. M.; PEREIRA, A. G. B.;
1536 MARTINS, A. F.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. N,N-Dimethyl chitosan/heparin
1537 polyelectrolyte complex vehicle for efficient heparin delivery. **International Journal**
1538 **of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 186-191, 2015.

1539

1540 CÂMARA, P. C. F.; BALABAN, R. C.; HEDAYATI, M.; POPAT, K. C.;
1541 MARTINS, A. F.; KIPPER, M. J. Novel cationic tannin/glycosaminoglycan-based
1542 polyelectrolyte multilayers promote stem cells adhesion of proliferation. **Royal**
1543 **Society of Chemistry**, v. 9, p. 25836-25846, 2019.

1544

1545 CAZÓN, P.; VÁZQUEZ, M.; VELAZQUEZ, G. Cellulose-glycerol-polyvinyl
1546 alcohol composite films for food packaging: Evaluation of water adsorption,
1547 mechanical properties, light-barrier properties and transparency. **Carbohydrate**
1548 **Polymers**, v. 195, p. 432-443, 2018.

1549

1550 CÁZON, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍRES, J. A.; VÁZQUEZ M.
1551 Polysaccharide-bases films and coatings for food packaging: A review. **Food**
1552 **Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

1553

1554 CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; VÁZQUEZ, M. Novel composite films from
1555 regenerated cellulose-glycerol-polyvinyl alcohol: Mechanical and barrier properties.
1556 **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 481-491, 2019.

- 1557 CHEN, P-H.; KUO, T-Y.; KUO, J-W.; TSENG, Y-P.; WANG, D-M.; LAI, J-Y.;
1558 HSIEH, H-J. Novel chitosan-pectin composite membranes with enhanced strength,
1559 hydrophilicity and controllable disintegration. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p.
1560 1236-1242, 2010.
- 1561
- 1562 CIANNAMEA, E.; CASTILLO, L. A.; BARBOSA, S. E.; ANGELIS., M. G. D.
1563 Barrier properties and mechanical strength of bio-renewable, heat-sealable films
1564 based on gelatin, glycerol and soybean oil for sustainable food packaging.
1565 **Reactive and Functional Polymers**, v. 125, p. 29-36, 2018.
- 1566
- 1567 DA CRUZ, J. A.; SILVA, A. B.; RAMIN, B. B. S.; SOUZA, P. R.; POPAT, K.
1568 C.; ZOLA, R. S.; KIPPER, M. J.; MARTINS, A. F. Poly (vinyl alcohol)/ cationic tannin
1569 blends films with antioxidant and antimicrobial activities. **Materials Science &**
1570 **Engineering C**, v. 107, p. 1-13, 2020.
- 1571
- 1572 DICK, M.; COSTA, T. M. H.; GOMAA, A.; SUBIRADE, M.; RIOS, A. O.;
1573 FLÔRES, S. H. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol
1574 concentration on its physicochemical and mechanical properties. **Carbohydrate**
1575 **Polymers**, v. 130, p. 198-205, 2015.
- 1576
- 1577 DILKES-HOFFMANN, L. S.; LANE, J. L.; GRANT, T.; PRATT, S.; LANT, P.
1578 A.; LAYCOCK, B. Environmental impact of biodegradable food packaging when
1579 considering food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 325-334, 2018.
- 1580
- 1581 DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D.
1582 B.; PATEIRO, M.; SANTOS, E. M.; LORENZO, J. M. Active packaging films with
1583 natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research**
1584 **International**, v. 113, p. 93-101, 2018.
- 1585
- 1586 DUAN, C.; MENG, X.; MENG, J.; KHAN, M. I. H.; DAI, L.; KHAN, A.; AN, X.;
1587 ZHANG, J.; HUQ, T.; NI, Y. Chitosan as A Preservative for Fruits and Vegetables: A
1588 Review on Chemistry and Antimicrobial Properties. **Journal of Bioresources and**
1589 **Bioproducts**, v. 4, n. 1, p. 11-21, 2018.

1590 ELSABEE, M. Z.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings:
1591 A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, p. 1819-1841, 2013.

1592

1593 FACCHI, D. P.; CAZETTA, A. L.; CANESIN, E. A.; ALMEIDA, V. C.;
1594 BONAFÉ, E. G.; KIPPER, M. J.; MARTNS, A. F. New magnetic
1595 chitosan/alginate/Fe₃O₄@SiO₂ hydrogel composites applied for removal of Pb(II)
1596 ions from aqueous systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 337, p. 595-608,
1597 2018.

1598

1599 FACCHI, D. P.; CRUZ, J. A.; BONAFÉ, E. G.; PEREIRA, A. G. B.;
1600 FAJARDO, A. R.; VENTER, S. A. S.; MONTEIRO, J. P.; MUNIZ, E. C.; MARTINS,
1601 A. F. Polysaccharide-based Materials Associated with or Coordinated to Gold
1602 Nanoparticles: Synthesis and Medical Application. **Current Medical Chemistry**, v.
1603 24, p. 1-35, 2017.

1604

1605 FACCHI, D. P.; FACCHI, S. P.; MARTINS, A. F. N,N,N- Trimethyl Chitosan
1606 and Its Potential Bactericidal Activity: Current Aspects and Technological
1607 Applications. **Journal of Infectious Diseases and Therapy**, v. 4, n. 4, p. 1-4, 2016.

1608

1609 FARHAN, A.; HANI, N. M. Characterization of edible packaging films based
1610 on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. **Food**
1611 **Hydrocolloids**, v. 64, p. 48-58, 2017.

1612

1613 FERREIRA, A. R. V.; ALVES, V. D.; COELHOSO, I. M. Polysaccharide-
1614 Based Membranes in Food Packaging Applications. **Membranes**, v. 6, p. 1-17,
1615 2016.

1616

1617 FOLLMANN, H. D. M.; MARTINS, A. F.; NOBRE, T. M.; BRESOLIN, J. D.;
1618 CELLET, T. S. P.; VALDERRAMA, P.; CORREA, D. S.; MUNIZ, E. C.; JUNIOR-
1619 OLIVEIRA, O. N. Extent of shielding by counter-ions determines the bactericidal
1620 activity of N,N,N-trimethyl chitosan salts. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 418-
1621 425, 2015.

1622 GARCIA, C. V.; SHIN, G. H.; KIM, J. T. Metal oxide-based nanocomposites
1623 in food packaging: Applications, migration, and regulations. **Trends in Food**
1624 **Science & Technology**, v. 82, p. 21-31, 2018.

1625

1626 GONÇALVES, S. M.; SANTOS, D. C.; MOTTA, J. F. G.; SANTOS, R. R.;
1627 CHÁVEZ, D. W. H.; MELO, N. R. Structure and functional properties of cellulose
1628 acetate films incorporated with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 190-
1629 197, 2019.

1630

1631 GORRASI, G.; BUGATTI, V.; VITTORIA, V. Pectins filled with LDH-
1632 antimicrobial molecules: Preparation, characterization and physical properties.
1633 **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 1, p. 132-137, 2012.

1634

1635 HAN, J-W.; RUIZ-GARCIA, L.; QIAN, J-P.; YANG, X-T. Food Packaging: A
1636 Comprehensive Review and Future Trends. **Comprehensive Reviews in Food**
1637 **Science and Food Safety**, v. 17, p. 860-877, 2018.

1638

1639 HAN, J. W. **Innovations in Food Packaging**. 2^a ed. Plano: Academic
1640 Press, 2014. 624 p.

1641

1642 HANANI, Z. A. N. Chapter 6 – Surface Properties of Biodegradable
1643 Polymers for Food Packaging. **Polymers for Food Applications**. 1^a ed., p. 131-147,
1644 Springer, 2018.

1645

1646 HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 5^a ed. Porto
1647 Alegre: Artmed, 2012. 520 p.

1648

1649 JAHED, E.; KHALEDABAD, M. A.; BARI, M. R.; ALMASI, H. Effect of
1650 cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of *Origanum vulgare* ssp.
1651 *gracile* essential oil-loaded chitosan films. **Reactive and Functional Polymers**, v.
1652 117, p. 70-80, 2017.

1653

1654 JANCY, S.; SHRUTHY, R.; PREETHA, R. Fabrication of packaging film
1655 reinforced with cellulose nanoparticles synthesized from jack fruit non-edible part
1656 using response surface methodology. **International Journal of Biological**
1657 **Macromolecules**, v. 142, p. 63-72, 2020.

1658

1659 JEON, S. J.; OH, M.; YEO, W-S, GALVÃO, K. N.; JEONG, K. C. Underlying
1660 Mechanism of Antimicrobial Activity of Chitosan Microparticles and Implications for
1661 the Treatment of Infectious Diseases. **PLOS ONE**, v. 9, n. 3, 1-10, 2014.

1662

1663 JOUKI, M.; KHAZAEI, N.; GHASEMLOU, M.; HADINEZHAD, M. Effect of
1664 glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum.
1665 **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 39-46, 2013.

1666

1667 KAEWKLIN, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SUWANAGUL, A.; LEE, Y. S. Active
1668 packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage
1669 life of tomato fruit. **Biological Macromolecules**, v. 112, p. 523-529, 2018.

1670

1671 KHANEGHAH A. M.; HASHEMI, S. M. B.; LIMBO, S. Antimicrobial agents
1672 and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of
1673 approaches and interactions. **Food and Bioproducts Processing**, v. 111, p. 1-19,
1674 2018.

1675

1676 KIM, H-S.; YANG, J.; KIM, K.; SHIN, U. S. Biodegradable and injectable
1677 hydrogels as an immunosuppressive drug delivery system. **Materials Science and**
1678 **Engineering C**, v. 98, p. 472-481, 2019.

1679

1680

1681 KNIDRI, H. E.; BELAABED, R.; ADDAOU, A.; LAAJEB, A.; LAHSINI, A.
1682 Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan.
1683 **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181-1189, 2018.

1684

1685 KOWALONEK, J. Studies of chitosan/pectin complexes exposed to UV
1686 radiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 515-
1687 524, 2017.

1688

1689 KUMAR, R.; GHOSHAL, G.; GOYAL, M. Synthesis and functional properties
1690 of gelatin/CA-starch composite film: excellent food packaging material. **Journal of**
1691 **Food Science and Technology**, v. 56, p. 1954-1965, 2019.

1692

1693 KUSWANDI, B.; MORADI, M. Chapter 16 – **Improvement of Food**
1694 **Packaging Based on Functional Nanomaterial**. 1^a ed. Cham: Springer, 2019. 439
1695 p.

1696 LAVORGNA, M.; PISTICELLI, F.; MANGIACAPRA, P.; BUONOCORE, G.
1697 G. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties
1698 of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 291-298, 2010.

1699

1700

1701 LECETA, I.; GUERRERO, P.; DE LA KABA, K. Functional properties of
1702 chitosan based-films. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 339-346, 2013.

1703

1704 LECETA, I.; GUERRERO, P.; IBARBURU, I.; DUEÑAS, M. T.; DE LA KABA,
1705 K. Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. **Journal of**
1706 **Food Engineering**, v. 116, p. 889-899, 2013.

1707

1708 LEE, J-W.; SON, S-M.; HONG, S-I. Characterization of protein-coated
1709 polypropylene films as a novel composite structure for active food packaging
1710 application. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 484-493, 2008.

1711

1712 LI, M.; TIAN, X.; JIN, R.; LI, D. Preparation and characterization of
1713 nanocomposite films containing starch and cellulose nanofibers. **Industrial Crops**
1714 **& Products**, v. 123, p. 654-660, 2018.

1715

1716 LICARDELLO, F. Packaging, blessing in disguise. Review on its diverse
1717 contribution to food sustainability. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65,
1718 p. 32-39, 2017.

1719

1720 LOZANO-NAVARRO, J. I.; DÍAZ-ZAVALA, N. P.; VELASCO-SANTOS, C.
1721 MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A. L.; TIJERINA-RAMOS, B. I.; GARCÍA-HERNANDEZ,
1722 M.; RIVERA-ARMENTA, J. L.; PÁRAMO-GARCÍA, U.; REYES-DE LA TORRE, A. I.
1723 Antimicrobial, Optical and Mechanical Properties of Chitosan-Starch Films with
1724 Natural Extracts. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p. 997-1015,
1725 2017.

1726

1727 LU, X.; CHEN, J.; GUO, Z.; ZHENG, Y.; REA, M. C.; SU, H.; ZHENG, X.;
1728 ZHENG, B.; MIAO, S. Using polysaccharides for the enhancement of functionality of
1729 foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 311-327, 2019.

1730

1731 LUO, Y.; WANG, Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte
1732 complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **International Journal of**
1733 **Biological Macromolecules**, v. 64, p. 353-367, 2014.

1734

1735 MACIEL, V. B. V.; YOSHIDA, C. M. P.; FRANCO, T. T. Chitosan/pectin
1736 polyelectrolyte complex as a pH indicator. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 537-
1737 545, 2015.

1738

1739 MAHINROOSTA, M.; FARSANGI, Z. J.; ALLAHVERDI, A.; SHAKOORI, Z.
1740 Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and
1741 applications. **Materials Today Chemistry**, v. 8, p. 42-55, 2018.

1742

1743 MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; EZQUERRA-
1744 BRAUER, J.M.; GRACIANO-VERDUGO, A. Z.; RODRIGUEZ-FÉLIX, F.;
1745 CASTILLO-ORTEGA, M. M.; YÉPIZ- GÓMEZ, M. S.; PLASCENCIA-JATOMEA, M.
1746 Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties.
1747 **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 305-315, 2010.

1748 MARTINS, A. F.; FACCHI, S. P.; FOLLMANN, H. D. M.; PEREIRA, A. G. B.;
1749 RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing
1750 N-quaternized moieties in its backbone: a review. **International Journal of**
1751 **Molecular Sciences**, v. 15, p. 20800-20832, 2014.

1752

1753 MARTINS, A. F.; VLCEK, J.; WIGMOSTA, T.; HEDAYATL, M.; REYNOLDS,
1754 M. M.; POPAT, K. C.; KIPPER, M. J. Chitosan/iota carrageenan and chitosan/pectin
1755 polyelectrolyte multilayer scaffolds with antiadhesive and bactericidal properties.
1756 **Applied Surface**, v. 502, p. 1-11, 2020.

1757

1758 MARTINS, J. G.; CAMARGO, S. E. A.; BISHOP, T. T.; POPAT, K. C.;
1759 KIPPER, M. J.; MARTINS, A. F. Pectin-chitosan membrane scaffold imparts
1760 controlled stem cell adhesion and proliferation. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, p.
1761 47-56, 2018a.

1762

1763 MARTINS, J. G.; OLIVEIRA, A. C.; GARCIA, P. S.; KIPPER, M. J.;
1764 MARTINS, A. F. Durable pectin/chitosan membranes with self-assembling, water
1765 resistance and enhanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 188,
1766 p. 136-142, 2018b.

1767

1768 MIX, S.; BUFFER, A.; SOLUTION, S.; MIX, S.; BUFFER, A.; SOLUTION, S.
1769 **Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit 88953**, 747 (n.d.).

1770

1771 MOSTAFA, A. A.; AL-ASKAR, A. A.; ALMAARY, K. S.; DAWOUD, T. M.;
1772 SHOLKAMY, E. N. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial
1773 strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.
1774 25, p. 361-366, 2018.

1775

1776 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6^a
1777 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 1298 p.

1778

- 1779 NESIC, A. R.; SESLIJA, S. I. The Influence of Nanofillers on Physical-
1780 Chemical Properties of Polysaccharide-Based Film Intended for Food Packaging.
1781 **Food Packaging**, v. 19, p. 637-697, 2017.
1782
- 1783 NGOUÉMAZONG, E. D.; CHRISTIAENS, S.; SHPIGELMAN, A.; LOEY, A.
1784 V., HENDRICKX, M. The emulsifying and emulsion-stabilizing properties of pectin:
1785 a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p.
1786 705-718, 2015.
1787
- 1788 NORCINO, L. B.; OLIVEIRA, J. E.; MOREIRA, F. K. V.; MARCONCINI, J.
1789 M.; MATTOSO, L. H. C. Rheological and thermo-mechanical evaluation of bio-based
1790 chitosan/pectin blends with tunable ionic cross-linking. **International Journal of**
1791 **Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1817-1823, 2018.
1792
- 1793 NISAR, T.; WANG, Z-C.; YANG, X.; TIAN, Y.; IQBAL, M.; GUO, Y.
1794 Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil:
1795 Physical, thermal, barrier, antioxidant and antimicrobial properties. **International**
1796 **Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 670-680, 2017.
1797
- 1798 OLIVEIRA, A. C.; VILSINSKI, B. H.; BONAFÉ, E. G.; MONTEIRO, J. P.;
1799 KIPPER, M. J.; MARTINS, A. F. Chitosan content modulates durability and structural
1800 homogeneity of chitosan-gellan gum assemblies. **International Journal of**
1801 **Biological Macromolecules**, v. 128, p. 114-123, 2019.
1802
- 1803 OLIVEIRA, A. C.; SABINO, R. M.; SOUZA, P. R.; MUNIZ, E. C.; POPAT, K.
1804 C.; KIPPER, M. J.; ZOLA, R. S.; MARTINS, A. F. Chitosan/gellan gum ratio contente
1805 into blends modulates the scaffolding capacity of hydrogels on bone mesenchymal
1806 stem cells. **Materials Science & Engineering C**, v. 106, p. 1-9, 2020.
1807
- 1808 ORSUWAN, A.; SOTHORNVIT, R. Polysaccharide Nanobased Packaging
1809 Materials for Food Application. **Food Packaging and Preservation**, v. 7, p. 239-
1810 270, 2018.

1811 OZTURK, B.; McCLEMENTS, D. J. Progress in natural emulsifiers for
1812 utilization in food emulsions. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 1-6, 2016.

1813

1814 PANDELE, A. M.; IONITA, M.; CRICA, L.; DINESCU, S.; COSTACHE, M.;
1815 IOVU, H. Syntesis, characterization, and *in vitro* studies of grapheme
1816 oxide/chitosan-polyvinyl alcohol films. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 813-820,
1817 2014.

1818

1819 **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;**
1820 **Twenty-Second Informational Supplement.** Clinical and Laboratory Standards
1821 Institute, vol. 32, n. 3, M100-S22, p. 188.

1822

1823 PRIYADARSHI, R.; SAURAJ, KUMAR, B.; NEGI, Y. S. Chitosan film
1824 incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for
1825 extension of green chilli shelf life. **Carbohydrate Polymers**, v. 195, p. 329-338,
1826 2018.

1827

1828 QIN, Y.; JIANG, J.; ZHAO, L.; ZHANG, J.; WANG, F. Chapter 13 -
1829 Applications of alginate as a functional food ingredient. **Biopolymers for Food**
1830 **Design**, 409-429.

1831

1832 RAMBABU, K.; BHARATH, G.; BANAT, F.; SHOW, P. L.; COCOLETZI, H.
1833 H. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food
1834 packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1234-
1835 1243, 2019.

1836

1837 RAMIN, B. B. S.; RUFATO, K. B.; SABINO, R. M.; POPAT, K. C.; KIPPER,
1838 M. J.; MARTINS, A. F.; MUNIZ, E. C. Chitosan/*iota*-carrageenan/curcumin-based
1839 materials performed by precipitating miscible solutions prepared in ionic liquid.
1840 **Journal of Molecular Liquids**, v. 290, p. 1-10, 2019.

1841

1842 RIAZ, A.; LEI, S.; AKHTAR, H. M. S.; WAN, P.; CHEN, D.; JABBAR, S.;
1843 ABID, M.; HASHIM, M. M.; ZENG, X. Preparation and characterization of chitosan-

1844 based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel
1845 polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 547-
1846 555, 2018.

1847

1848 RITCHIE, H.; ROSER, M. Plastic Pollution. **OUR WORLD IN DATA**, 2018.
1849 Disponível em: <https://ourworldindata.org/plastic-pollution>. Acesso em: 17 jan. 2019.

1850

1851 ROCHA, M.; SOUZA, M. M.; PRENTICE, C. Biodegradable Films: An
1852 Alternative Food Packaging. **Food Packaging and Preservation**, v. 9, p. 307-342,
1853 2018.

1854

1855 ROMERO, R.; CHUBB, L.; TRAVERS, J. K.; GONZALES, T. R.; EHRHART,
1856 N. P.; KIPPER, M. J. Coating cortical bone allografts with periosteum-mimetic
1857 scaffolds made of chitosan, trimethyl chitosan, and heparin. **Carbohydrate**
1858 **Polymers**, v. 122, p. 144-151, 2015.

1859

1860 RUFATO, K. B.; ALMEIDA, V. C.; KIPPER, M. J.; RUBIRA, A. F.; MARTINS,
1861 A. F.; MUNIZ, E. C. Polysaccharide-based adsorbents prepared in ionic liquid with
1862 high performance for removing Pb(II) from aqueous systems. **Carbohydrate**
1863 **Polymers**, v. 2015, p. 272-279, 2019.

1864

1865 SAEKHOR, K.; UDOMSINPRASERT, W.; HONSAWEK, S.;
1866 TACHABOONYAKIAT, W. Preparation of an injectable modified chitosan-based
1867 hydrogel approaching for bone tissue engineering. **International Journal of**
1868 **Biological Macromolecules**, v. 123, p. 167-173, 2019.

1869

1870 SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO,
1871 L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis –**
1872 **Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades**. Campinas: CETEA, 2002.
1873 267 p.

1874

- 1875 SARTORI, T.; FELTRE, G.; SOBRAL, P. J. A.; CUNHA, R. L.; MENEGALLI,
1876 F. C. Properties of films produced from blends of pectin and gluten. **Food Packaging
1877 and Shelf Life**, v. 18, p. 221-229, 2018.
1878
- 1879 SHAHBAZI, Y. The properties of chitosan and gelatin films incorporated with
1880 ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil as
1881 biodegradable materials for active food packaging. **International Journal of
1882 Biological Macromolecules**, v. 99, p. 746-753, 2017.
1883
- 1884 SINGH, R. S.; KAUR, N.; KENNEDY, J. F. Pullulan production from agro-
1885 industrial waste and its applications in food industry: A review. **Carbohydrate
1886 Polymers**, v. 217, p. 46-57, 2019.
1887
- 1888 SIRACUSA, V.; ROMANI, S.; GIGLI, M.; MANNOZZI, C.; CECCHINI, J. P.;
1889 TYLEWICZ, U.; LOTTI, N. Characterization of Active Edible Films based on Citral
1890 Essential Oil, Alginate and Pectin. **Materials**, v. 11, n. 1980, p. 1-14, 2018.
1891
- 1892 SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W. Improving functional properties
1893 of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. **Food
1894 Hydrocolloids**, v. 61, p. 695-702, 2016.
1895
- 1896 SONG, E-H.; SHANG, J.; RATNER, D. M. Polysaccharides. **Polymer
1897 Science: A Comprehensive Reference**, v. 9, p. 137-155, 2012.
1898
- 1899 SONI, B.; MAHMOUD, B.; CHANG, S.; EL-GIAR, E. M.; HASSAN, E. B.
1900 Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan/TEMPO
1901 biocomposite packaging films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 17, p. 73-79,
1902 2018.
1903
- 1904 SOUTO-MAIOR, J. F. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O.
1905 A.; Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery:
1906 Preparation and physicochemical characterization. **Polymer International**, v. 59, n.
1907 1, p. 127-135, 2010.

- 1908 SUDERMAN, N.; ISA, M, I. N.; SARBON, N. M. The effect of plasticizers on
1909 the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. **Food**
1910 **Bioscience**, v. 24, p. 111-119, 2018.
- 1911
- 1912 TAN, H. W.; AZIZ, A. R. A.; AROUA, M. K. Glycerol production and its
1913 applications as a raw material: A review. **Renewable and Sustainable Energy**
1914 **Reviews**, v. 27, p. 118-127, 2013.
- 1915
- 1916 TAN, Y. M.; LIM, S. H.; TAY, B. Y.; LEE, M. W.; THIAN, E. S. Functional
1917 chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food
1918 packaging technology. **Materials Research Bulletin**, p. 1-5, 2014.
- 1919
- 1920 TSAI, R-Y.; CHEN, P-W.; KUO, T-Y.; LIN, C-M.; WANG, D-M.; HSIEN, T-Y.;
1921 HSIEH, H-J. Chitosan/pectin/gum Arabic polyelectrolyte complex: Process-
1922 dependent appearance, microstructure analysis and its applications. **Carbohydrate**
1923 **Polymers**, v. 101, p. 752-759, 2014.
- 1924
- 1925 TENTOR, F. R.; OLIVEIRA, J. H.; SCARIOT, D. B.; LAZARÍN-BIDÓIA, D.;
1926 BONAFÉ, E. G.; NAKAMURA, C. V.; VENTER, S. A. S.; MONTEIRO, J. P.; MUNIZ,
1927 E. C.; MARTINS, A. F. Scaffolds based on chitosan/pectin thermosensitive
1928 hydrogels containing gold nanoparticles. **International Journal of Biological**
1929 **Macromolecules**, v. 102, p. 1186-1194, 2017.
- 1930
- 1931 TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Preparation and
1932 physicochemical evaluation of chitosan /poly (vinyl alcohol)/pectin ternary film for
1933 food-packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 711-716, 2010.
- 1934
- 1935 ULLAH, F.; OTHMAN, M. B. H.; JAVED, F.; AHMAD, Z.; AKIL, H. M.
1936 Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science**
1937 **and Engineering C**, v. 57, p. 414-433, 2015.
- 1938

- 1939 VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. A.; SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-
1940 based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v.
1941 47, p. 254-263, 2011.
- 1942
- 1943 VITALE, G.; MOSNA, D.; BOTTANI, E.; MONTANARI, R.; VIGNALI, G.
1944 Environmental impact of a new industrial process for the recovery and valorisation
1945 of packaging materials derived from packaged food waste. **Sustainable Production**
1946 **and Consumption**, v. 14, p. 105-121, 2018.
- 1947
- 1948 WU, S.; WANG, W.; YAN, K.; DING, F.; SHI, X.; DENG, H.; DU, Y.
1949 Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food packaging.
1950 **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 236-242, 2018.
- 1951
- 1952 XU, J.; XIA, R.; ZHENG, L.; YUAN, T.; SUN, R. Plasticized
1953 hemicelluloses/chitosan-based edible films reinforced by cellulose nanofiber with
1954 enhanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 224, p. 1-9, 2019.
- 1955
- 1956 YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water vapour barrier properties
1957 of edible gellan films. **Food Research International**, v. 33, p. 563-570, 2000.
- 1958
- 1959 YOUNIS, H. G. R.; ZHAO, G. Physicochemical properties of the edible films
1960 from the blends of high methoxyl apple pectin and chitosan. **Biological**
1961 **Macromolecules**, v. 131, p. 1057-1066, 2019.
- 1962
- 1963 YOUSSEF, A. M.; EL-SAYED, S. M. Bionanocomposites materials for food
1964 packaging applications. Concepts and future outlook. **Carbohydrate Polymers**, v.
1965 193, p. 19-27, 2018.